146

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1906 — **THÈSE** — N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le jeudi 8 février 1906 à 1 heure

Par M. Louis BOIDIN

Né à Bains (Vosges), le 5 octobre 1876
Interne Lauréat des hôpitaux de Paris.

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES SUR LES POISONS DE LA

BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE

NATURE DE LA RÉACTION LOCALE DANS L'OEDÈME MALIN

Travail des Laboratoires du professeur agrégé Chauffard et du professeur Chantemesse

Président : M. CHANTEMESSE, *professeur*.
Juges : MM. BROUARDEL, POUCHET, *professeurs*
DUPRÉ, *agrégé*

PARIS
G. STEINHEIL, ÉDITEUR
2, RUE CASIMIR-DELAVIGNE, 2
—
1906

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen..... M. DEBOVE.

Professeurs ..... MM.

Anatomie	POIRIER.
Physiologie	Ch. RICHET.
Physique médicale	GARIEL.
Chimie organique et chimie minérale	GAUTIER.
Histoire naturelle médicale	R. BLANCHARD.
Pathologie et thérapeutique générales	BOUCHARD.
Pathologie médicale	HUTINEL. BRISSAUD.
Pathologie chirurgicale	LANNELONGUE.
Anatomie pathologique	CORNIL.
Histologie	MATHIAS DUVAL.
Opérations et appareils	SEGOND.
Pharmacologie et matière médicale	POUCHET.
Thérapeutique	GILBERT.
Hygiène	CHANTEMESSE.
Médecine légale	BROUARDEL.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	DEJERINE.
Pathologie expérimentale et comparée	ROGER.
Clinique médicale	LANDOUZY. HAYEM. DIEULAFOY. DEBOVE.
Clinique des maladies des enfants	GRANCHER.
Clinique de pathologie mentale et des maladies de l'encéphale	JOFFROY.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAUCHER.
Clinique des maladies du système nerveux	RAYMOND. LE DENTU.
Clinique chirurgicale	RECLUS. TERRIER. BERGER.
Clinique ophtalmologique	DE LAPERSONNE.
Clinique des maladies des voies urinaires	GUYON.
Clinique d'accouchements	PINARD. BUDIN.
Clinique gynécologique	POZZI.
Clinique chirurgicale infantile	KIRMISSON.
Clinique thérapeutique	ROBIN

Agrégés en exercice.

MM.	MM.	MM.	MM.
AUVRAY	DESGREZ.	POTOCKI.	LAUNOIS.
BALTHAZARD.	DUPRÉ.	LEGRY.	PROUST.
BRANCA.	DUVAL.	LEGUEU.	RÉNON.
BRINDEAU.	FAURE.	LEPAGE.	RICHAUD.
BEZANÇON.	GOSSET.	MACAIGNE.	RIEFFEL. *Chef des travaux anatomiques*
BROCA (ANDRÉ).	GOUGET.	MAILLARD.	
CARNOT.	GUIART.	MARION.	TEISSIER.
CLAUDE.	JEANSELME.	MAUCLAIRE.	THIROLOIX.
CUNEO.	LABBÉ.	MÉRY.	VAQUEZ.
DEMELIN.	LANGLOIS.	MORESTIN.	WALLICH.

Secrétaire de la Faculté : M. GRISEZ.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON GRAND PÈRE, Le Docteur BAILLY

ANCIEN INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

A MES PARENTS

A MON MAITRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

M. Le Professeur CHANTEMESSE

Hommage respectueux. Souvenir reconnaissant de l'année passée dans son service à l'hôpital du Bastion 29.

A MES MAITRES DANS LES HOPITAUX

A MM.

Le professeur agrégé Widal (médaille d'or) 1905-1906.

Le professeur Chantemesse (Internat 1904-1905).

Le professeur agrégé Chauffard (Internat 1903-1904).

Le docteur André Petit (Internat 1902-1903).

Le docteur P. Oulmont (Internat 1901-1902).

Les docteurs Klippel et Lion (Interne provisoire 1900-1901).

Le professeur agrégé Letulle (Externat 1889-1900).

Le professeur agrégé Nélaton (Externat 1888-1889).

MM.

Belin, de Grandmaison, Marcel Labbé, Legueu, Mosny, P. Teissier.

Témoignage de respectueux attachement et de profonde reconnaissance.

Nous remercions bien sincèrement M. le Dr de Massary, médecin des hôpitaux, qui durant toutes nos études médicales a été pour nous un maître très affable et un ami très dévoué ; M. le Dr J. Auclair, médecin des hôpitaux, de l'affectueuse bienveillance qu'il nous a témoignée et des précieux conseils qu'il nous a donnés devant l'exécution de ce travail ; M. le docteur J. Castaigne de l'intérêt amical qu'il nous a toujours porté.

INTRODUCTION

I

Les étapes qui ont marqué l'évolution de la bactériologie sont bien nettement tranchées. C'est qu'elles dépendent chacune d'une idée générale neuve ouvrant tout à coup une voie nouvelle de recherches. La découverte des germes, l'étude de leur morphologie, de leur végétabilité en dehors de l'organisme, de leur inoculabilité marquent le début des études bactériologiques. Dès cette époque le hasard suggère au génie de Pasteur une des idées les plus productives; nous voulons parler de l'atténuation des microbes dont il tire lui-même toutes les déductions possibles. Mais cette méthode si fertile en applications pratiques n'aboutit cependant qu'à la vaccination, non à la guérison.

C'est alors que deux nouvelles idées se font jour qui s'enchaînant, se complétant l'une l'autre, vont aboutir à des résultats thérapeutiques remarquables. Tout d'abord, on pense et on démontre que les microbes agissent par leurs produits de sécrétion ou toxines, et ensuite on reconnaît que ces produits injectés à un animal soit atténués, soit à petites doses répétées déterminent la formation dans son sérum d'antitoxines. C'était là l'origine de la sérothérapie.

Mais l'explication des phénomènes intimes se passant dans l'organisme ainsi traité restait à fournir. Il fallait connaître quels étaient les facteurs de résistance, comment,

en un mot, s'établissait l'immunité. Cette étude était d'autant plus attrayante que l'on pouvait espérer que la solution de ce problème établirait les causes d'échecs vis-à-vis de trop nombreuses infections. Les idées actuellement admises sur ce sujet, sont remarquablement exposées d'une façon analytique et critique dans le livre de M. Metchnikoff (1).

Découverte du microbe ; vaccination. — Découverte des toxines; sérothérapie.— Etude du mécanisme de l'immunité. Tels sont, pour nous résumer, les grands chapitres de l'histoire de la bactériologie.

L'étude des toxines est un de ces chapitres qui offre encore le plus de sujets de recherches, car il semble bien admis aujourd'hui que les poisons sécrétés par un même microbe sont variés, multiples et qu'ils peuvent par cela même être extraits par des procédés nombreux. Les toxines qu'on a le plus étudiées sont des toxines solubles, c'est-à-dire abandonnées par les microbes aux milieux dans lesquels ils cultivent. Cet abandon se fait à des moments différents, dans des conditions spéciales de végétabilité du microbe, et c'est l'étude de toutes ces conditions favorables qui a permis à des savants tels que MM. Roux et Yersin d'obtenir la toxine diphtérique ; Kund-Faber d'extraire celle du tétanos ; Brieger et Fraenkel, Sanarelli et surtout Chantemesse d'extraire celle de la fièvre typhoïde. Mais une fois en possession des toxines actives des agents de ces maladies on a cherché, en injectant ces poisons atténués ou à petites doses, à déterminer dans le sérum des animaux traités la formation de substances qui lui donnaient des

(1) Metchnikoff, *L'immunité dans les maladies infectieuses*. Paris, 1901.

propriétés curatives. Behring et Kitasato, Roux et Vaillard pour le tétanos ; Behring, Roux pour la diphtérie, Chantemesse pour la fièvre typhoïde se sont attachés à résoudre ce difficile problème.

Mais il existe tout une gamme dans les degrés de solubilité de ces toxines ; certaines bactéries ne les abandonnent, en effet, que très difficilement au milieu de culture, aussi plusieurs auteurs ont-ils agi directement sur elles, soit par congélation brusque, soit par broyage, pour faciliter l'issue des poisons qu'elles contiennent.

Ces poisons rentrent cependant toujours dans le groupe général des toxines solubles.

C'est à notre maître, M. J. Auclair, que revient le mérite d'avoir décrit le premier tout un nouveau groupe de poisons microbiens, les *poisons adhérents*. Ils restent dans le corps microbien lui-même, ne passent pas dans le milieu de culture, et sont probablement solubilisés petit à petit, lentement dans l'organisme pour produire immédiatement leur effet, là où est le microbe lui-même, créant la lésion locale, spécifique. Ce nouveau groupe de poisons adhérents est du fait de leur action dénommé par M. Auclair : « Poisons à détermination locale prédominante. » Ces poisons se trouvent dans l'enveloppe graisseuse des microbes et sont extraits par les dissolvants des graisses, en particulier l'éther et le chloroforme. Cette découverte fut faite il y a huit ans sur le bacille de Koch. Cet auteur montre même que l'extrait éthéré (éthéro-bacilline) et l'extrait chloroformé (chloroformo-bacilline) déterminent une forme spéciale de la lésion tuberculeuse, le premier créant la

forme caséeuse, le second la forme fibreuse (1). Ces travaux furent vérifiés par de nombreux auteurs et sont maintenant admis sans conteste.

Cette nouvelle variété de poison parut un certain temps être l'apanage exclusif du bacille de Koch, apanage exclusif dû à la constitution spéciale de ce microbe tout particulièrement graisseux.

Mais il y a un an, par de longues recherches expérimentales, M. Auclair a pu constater que la plupart des microbes (il a étudié dans son mémoire (2) le bacille d'Eberth, le streptocoque, le staphylocoque, le gonocoque, le pneumobacille de Friedländer, l'actinomycète et le bacille de Lœffler) possèdent, eux aussi, des poisons de même ordre que ceux décrits par lui dans le bacille de Koch. Ces poisons extraits par l'éther ou le chloroforme reproduisent la lésion locale créée par ces divers microbes. Il s'agit donc là d'une méthode générale d'extraction de toxines, et de toxines spéciales, adhérentes au corps microbien et qui,

(1) J. Auclair, *a*) *Etude expérimentale sur les poisons du bacille tuberculeux humain. Essais de vaccination et de traitement*, Thèse Paris, G. Steinheil, 1897.

b) Les poisons du bacille tuberculeux humain. La dégénérescence caséeuse. *Revue de la Tuberculose*, n° 2, juillet 1898, p. 97.

c) Les poisons du bacille tuberculeux humain. Recherches sur la pneumonie tuberculeuse. *Archives de méd. expérimentale*, 1899.

d) Les poisons du bacille tuberculeux humain. La sclérose pulmonaire d'origine tuberculeuse. *Archives de méd. expérimentale*, 1900.

e) La nature des processus tuberculeux éclairée par l'étude des poisons du bacille de Koch. L'intoxication tuberculeuse locale. *Revue de la Tuberculose*, 1904.

(2) J. Auclair, Recherches sur les poisons microbiens. Les poisons microbiens à détermination locale prédominante. *Archives de méd. expérimentale*, novembre 1903.

isolées, reproduisent les mêmes désordres anatomiques que l'agent pathogène lui-même.

On comprend dès lors, l'importance considérable de ces poisons. Si dans certaines maladies ils ne peuvent jouer qu'un rôle effacé dans la genèse des accidents observés, dans d'autres au contraire, ce sont eux qui créent la lésion dangereuse. Nombreuses, en effet, sont les affections où la lésion locale est presque tout. M. Metchnikoff, dans son Introduction à l' « Immunité dans les maladies infectieuses » montre bien qu'à côté des maladies où l'intoxication générale domine la scène clinique, il en existe d'autres où la mort est le fait de la destruction mécanique d'organes importants.

« Il est incontestable que dans la tuberculose chronique chez le cobaye, le bacille de Koch amène une substitution des éléments tuberculeux aux tissus normaux et ceci à tel point qu'il ne reste à la fin de la maladie que des traces de foie et de poumons normaux. L'animal meurt par défaut de ces organes dont le fonctionnement normal est devenu impossible. Chez le cobaye tuberculeux, les phénomènes d'intoxication par les poisons bacillaires ne jouent qu'un rôle secondaire ; cependant il y a des exemples de tuberculose (comme la tuberculose miliaire aiguë chez l'homme ou la tuberculose expérimentale des vaches, obtenue par le procédé de M. Nocard d'inoculation dans les conduits galactophores), où l'empoisonnement devient beaucoup plus important.

« Parmi les maladies bactériennes de l'homme, on peut citer la lèpre, dans laquelle l'intoxication est reléguée au second plan, cédant la place à l'élément mécanique de la

substitution aux tissus normaux du granulome spécifique. Ce n'est que dans les poussées lépreuses aiguës qu'on aperçoit des signes d'intoxication par les produits du bacille de la lèpre.

« Mais tous les cas mentionnés ne constituent qu'une faible minorité qui s'efface devant la quantité d'infections, dans lesquelles l'élément toxique domine la situation. Même dans les maladies charbonneuses, l'analyse précise des phénomènes morbides a obligé de reconnaître une influence considérable du poison produit par la bactéridie. La plupart des microbes agissent précisément en leur qualité d'empoisonneurs qui s'introduisent dans l'organisme pour sécréter leurs toxines capables de provoquer des troubles généraux de natures très diverses. »

Dans cette distinction des maladies infectieuses, M. Metchnikoff oppose les maladies toxiques à celles où l'« élément mécanique » joue le principal rôle. Or, si l'histologie pathologique avait pu montrer la nature anatomique de ces lésions, c'est à M. Auclair que revient le mérite d'en avoir reconnu l'origine toxique. « Les microbes pathogènes agissent au sein des tissus vivants, bien plus par des toxines que par leur activité biologique s'exerçant aux dépens des éléments anatomiques. » Il a précisé la nature et le mode d'extraction de ces poisons, de sorte que c'est sur une base expérimentale solide qu'il s'appuie pour reprendre, en l'expliquant par une sécrétion toxique spéciale prédominante, la classification des maladies infectieuses.

« La plupart des maladies microbiennes humaines, pour n'envisager que celles-là, ressortissent à cette double action toxique (toxines solubles et toxines adhérentes) et suivant

que l'une ou l'autre est prépondérante, on peut établir deux premiers groupes de ces maladies :

« Les unes, comme le tétanos, la diphtérie..., méritent le nom de maladies à action toxique générale prédominante ; les autres, comme l'actinomycose, la blennorrhagie, la tuberculose, peuvent être classées parmi les maladies à détermination toxique locale prépondérante.

« Entre ces deux classes d'affections, comme pour vérifier une fois de plus l'assertion du philosophe : *natura non facit saltus*, se placent d'autres maladies : la fièvre typhoïde, les infections à pneumocoque, à streptocoque, à staphylocoque.... capables, suivant les cas, de se rapprocher plus ou moins des premières ou des secondes et les reliant entre elles par une série de chaînons ininterrompus. »

De cette distinction entre les maladies à toxines générales ou locales prédominantes, découlent des considérations pratiques. M. Auclair rappelle que l'immunisation toxique est spécifique, qu'elle ne se produit que vis-à-vis la toxine employée. Or l'immunisation n'a été créée, jusqu'alors, qu'avec des toxines solubles à effets généraux. Il y aurait lieu de chercher à créer l'immunisation vis-à-vis des toxines locales. Et celle-ci offre peut-être un intérêt capital quand il s'agit de maladies où la lésion locale joue le rôle prépondérant.

II

Nous voyons par ce rapide exposé toute l'importance du groupe des toxines isolées par M. Auclair. Si ses travaux ont reçu une confirmation absolue pour ce qui a trait aux

poisons tuberculeux (1), rien n'a été tenté, en dehors de lui, pour l'étude de ces toxines dans les aulres espèces microbiennes. C'est cette étude que nous nous proposons de faire sur la bactéridie charbonneuse. Nous avions plusieurs raisons pour choisir ce microbe comme sujet d'étude. Nous observions alors avec notre maître, M. Chauffard, un cas d'infection charbonneuse chez l'homme (2). Nous étions frappé de l'intensité de la réaction locale qui s'était produite. L'œdème malin, limité d'abord à la paupière, avait envahi le cou, le thorax et était devenu si volumineux qu'il entraînait une gêne considérable de la respiration et qu'on avait été sur le point de pratiquer d'urgence la trachéotomie. La lésion locale, si légère chez l'animal, est donc souvent considérable chez l'homme ; c'est une remarque qui a d'ailleurs été faite par tous les auteurs qui ont étudié le charbon, mais qui nous montrait, au point de vue spécial qui nous occupe, l'importance de la lésion locale dans l'infection charbonneuse humaine.

La bactéridie est, d'autre part, volumineuse, constituée

(1) P. Armand-Delille, *Bull. de la Soc. de Biologie*, 25 octobre et 27 décembre 1901 ; *Arch. de méd. expérim.*, mai 1902 et *Revue neurol.*, 15 juillet 1901 ; *Rôle des poisons du bacille de Koch dans la méningite tuberculeuse et la tuberculose des centres nerveux*, Thèse de Paris, G. Steinheil, 1903.

— Oppenheim et Loeper, *C. R. de la Soc. de Biolog.*, 15 mars 1903.

— Léon Bernard et Salomon, *Soc. de Biologie*, 30 octobre et 7 novembre 1903.

— Salomon, *Recherches expérimentales sur les lésions rénales causées par le poison tuberculeux*, Thèse de Paris, 1904.

— Darier, Des sarcoïdes multiples sous-cutanées. Communication au *X^e Congrès international de dermatologie.*

(2) A. Chauffard et L. Boidin, Etude d'un cas d'infection charbonneuse. *Soc. méd. des Hôp.*, 17 juillet 1903.

par une enveloppe épaisse, conditions qui nous semblaient favorables à l'obtention de quantités notables d'extraits.

Enfin, la bactéridie a toujours été le microbe type d'étude ; c'est sur elle que l'on a tout d'abord tenté les applications qui découlaient des grandes idées nouvelles. Or, malgré les recherches, les résultats sont encore assez incertains quand il s'agit de ses produits de sécrétion, de ses toxines.

Ce sont donc les poisons extraits de la bactéridie charbonneuse par la méthode d'Auclair que nous nous proposons d'étudier ici. Notre travail comprend deux parties.

Dans la première partie nous nous occcupons de l'*action locale* de ces poisons. Nous montrons que les matières grasses extraites des bactéridies par l'éther et le chloroforme et débarrassées de tout corps microbien, produisent, injectées aux animaux, la lésion charbonneuse. Dans le tissu cellulaire sous-cutané, elles créent l'œdème malin ; en injection intra-trachéale elles déterminent au niveau du poumon des désordres anatomiques analogues à ceux causés dans cet organe par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes ou mortes.

Nous avons fait précéder l'étude des lésions créées par nos extraits, soit dans le tissu cellulaire soit dans le poumon, de l'étude des lésions créées dans ces organes par les microbes virulents ou tués. Nous avons pu montrer ainsi l'analogie des réactions obtenues.

Dans une seconde partie nous nous proposons d'étudier l'*action générale* sur l'organisme de ces poisons solubilisés. Dans un certain nombre d'expériences ils se sont montrés doués de propriétés toxiques et ont entraîné la mort des animaux injectés. Malheureusement certaines expériences

sont restées négatives sans que nous ayons pu fixer encore d'une façon rigoureuse la cause de ces échecs. Il y a là matière à de nouvelles recherches, car la connaissance exacte des conditions qui règlent cette toxicité et la détermination de la dose de substance capable d'entraîner la mort de l'animal, sont indispensables pour permettre de juger des modifications que peuvent créer dans l'organisme l'injection de ces substances à doses non mortelles et progressivement croissantes.

PREMIÈRE PARTIE

ACTION LOCALE DES POISONS BACTÉRIDIENS

CHAPITRE PREMIER

Structure de la bactéridie charbonneuse. — Préparation et caractères des extraits éthérés et chloroformés.

§ 1.

Dans cette première partie nous avons pour but de démontrer que les matières grasses extraites des bactéridies par l'éther et le chloroforme et débarrassées de tout corps microbien, produisent, injectées aux animaux, la lésion charbonneuse.

Quelques auteurs avaient déjà soutenu que certaines substances chimiques contenues dans l'intérieur des microbes sont capables de déterminer autour de ceux-ci une réaction locale manifeste. Büchner (1), en particutier, a étudié sur dix-huit espèces microbiennes et plus spécialement sur

(1) Büchner, Ueber die im Bakterienkörper enthaltene Eiterung erregende Substunz. — Ueber pyogene Wirkung des Bakterieninhaltes. *Münch. med. Wochensch.*, n° 29, 22 juillet 1890

le pneumo-bacille de Friedländer, l'action d'une substance albuminoïde extraite par digestion de ces corps microbiens dans une lessive de potasse à 0,5 0/0. — Cette substance qui provient du protoplasma bactérien et qui serait mise en liberté dans les tissus par la mort des bactéries, se rapproche du groupe de l'albumine et de la peptone. Elle a nettement pour le bacille de Friedländer les réactions d'un albuminoïde que Brieger propose de nommer protéine du pneumo-bacille et qui se rapproche de l'anthrax-protéine retirée par Nencki et Drymont (1) des spores du charbon.

Ces protéines ne sont ni facilement solubles, ni facilement destructibles ; elles résistent à une température de 120° pendant une heure. Injectées, elles déterminent l'accumulation de cellules de pus. L'expérience faite avec les tubes de verre de Cohnheim-Councilmann montre la formation de pus aseptique.

Büchner montre dans un autre mémoire (2), que ces protéines extraites des bactéridies détruisent les leucocytes qu'elles attirent, et ce fait distingue ce processus d'un simple phénomène d'absorption dans lequel les leucocytes s'emparent des substances anormales mais quittent le foyer sans avoir été altérés.

Enfin Büchner s'injecte une émulsion stérilisée de bacilles encapsulés de Friedländer, il a des phénomènes géné-

(1) Drymont, Einige Beobachtungen über die Milzbrandbacillen. *Archiv für experimental. Patholog.*, Band XXI, p. 309.

(2) Buchner, Der chemische Reizbarkeit d. Leucocyten m. d. Beziehung z. Entzündung und Eiterung. *Münchener medicin. Woch.*, n° 47, 25 novembre 1890.

— Buchner, Friedrich Lange et Friedrich Rœmer, *ibid. Berliner klinische Wochenschrift*, 24 novembre 1900.

raux et un érysipèle aseptique au point d'inoculation. Wilhelm Meyer et Ludwig Vaab observent absolument les mêmes symptômes après injection de 1 centimètre cube d'une solution stérilisée et très diluée, contenant 3 milligr. 1/2 de protéine solide.

Ces travaux de Büchner nous intéressent au plus haut point car bien des rapprochements sont à établir, quant à leurs effets, entre cette substance albuminoïde et les matières grasses que nous avons extraites de la bactéridie charbonneuse. Nos extraits éthérés et chloroformés sont, comme nous le verrons dans la suite, adhérents, eux aussi, aux corps microbiens ; ils résistent, eux aussi, à de hautes températures ; ils produisent un appel leucocytaire considérable avec dégénérescence rapide des leucocytes. Enfin la détermination d'accidents locaux par les extraits est aussi une loi générale s'appliquant à tous les microbes.

Mais ce qui distingue les matières grasses isolées par la méthode d'Auclair des substances albuminoïdes de Büchner et ce qui leur donne plus de valeur, c'est qu'elles sont capables de déterminer, non pas seulement un appel leucocytaire, mais la lésion spécifique, la réaction tout entière que crée le microbe vivant dont elles proviennent.

Nous parlons à tout instant de l'action des matières grasses extraites des différents corps microbiens. Trouvons-nous dans les auteurs des renseignements sur la constitution graisseuse de ceux-ci ? Le fait est admis par tous pour le bacille de la tuberculose depuis les recherches de Hammerslag, Koch, Auclair. Ce dernier auteur a pu extraire par une méthode identique, des matières grasses d'autres microbes (bacille de Lœffler, d'Eberth, staphylocoque, etc.),

et Duclaux (1) considère de même comme un e loi générale la présence de graisse dans les différents corps microbiens. Il rapporte des dosages de Cramer qui montrent que celle-ci entre même pour une assez large part dans leur structure.

Pour ce qui a trait à la bactéridie charbonneuse nous n'avons pas trouvé de renseignements spéciaux. Les auteurs qui ont découvert et étudié la capsule d'enveloppe ne donnent pas de détails sur sa constitution chimique. Ils la désignent comme une capsule gélatineuse, hyaline, etc. mais ne précisent pas davantage. Nous avons essayé de colorer directement par la teinture d'orcanette acétique, l'acide osmique, etc., les matières grasses de la bactéridie ; mais nous n'avons rien obtenu. Il est vrai que nos recherches ont été tout aussi négatives quand nous avons appliqué ces colorants au bacille de Koch, pourtant manifestement graisseux.

Mais si nous n'avons pas pu déceler ces matières grasses de la bactéridie charbonneuse par les réactifs colorants, nous avons pu les extraire par des procédés chimiques. Nous allons maintenant donner en détail notre technique et nous montrerons ensuite que ces matières grasses contiennent des poisons spéciaux.

§ 2. —Mode de préparation des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse.

La technique est simple ; il suffit de filtrer sur papier des cultures de bactéridies en eau peptonée, après les avoir ou non tuées par la chaleur ; de déposer ce filtre dans l'éther

(1) Duclaux, *Traité de microbiologie.*

ou le chloroforme ; de se débarrasser ensuite des bactéridies par filtration à la bougie, et enfin d'évaporer l'éther ou le chloroforme qui ont dissous les matières grasses des microbes. Mais nous devons préciser tous les détails de ces manipulations, car ce sont eux qui permettent d'obtenir un rendement maximum en matières grasses.

1° Une dizaine de ballons de 250 centimètres cubes d'eau peptonée sont ensemencés avec des bactéridies virulentes. On les laisse à l'étuve à 37° environ huit jours.

2° On tue les cultures par un passage à l'autoclave à 100° pendant une demi-heure. La température de 120° ne détruit pas les effets locaux de ces substances, mais les atténue peut-être un peu. Il nous a semblé que dans ce dernier cas, la lésion locale était moins saisissante. Si on a pour but d'étudier l'action générale de ces extraits il vaut mieux ne pas chauffer les cultures, il faudra prendre alors dans la suite des manipulations toutes les précautions d'usage.

3° On passe les cultures sur un filtre double de papier. Cette filtration est presque absolue ; les bactéridies forment sur le papier un enduit brunâtre, onctueux, tandis que le liquide passe clair. On laisse bien sécher le filtre pour le débarrasser de l'eau qui l'imbibe. Toutes ces manipulations sont faites proprement, à l'abri des poussières du laboratoire.

4° On place le filtre chargé de microbes dans un ballon contenant une quantité suffisante d'éther ou de chloroforme pour qu'il baigne largement dans ces liquides. On a soin d'agiter souvent et fortement. On laisse ainsi en contact 48 heures. Puis on fait agir l'éther ou le chloroforme à chaud ; à cet effet, on les distille en partie. On décante en-

suite l'éther ou le chloroforme qui n'ont pas distillé et on exprime dans le ballon qui les contient le filtre de papier. On en extrait ainsi les bactéridies qu'on laisse encore en contact avec le liquide dissolvant pendant 12 à 24 heures.

5° Puis on filtre alors à la bougie dans le vide l'éther ou le chloroforme contenant les microbes, pour retenir ceux-ci.

6° Il ne reste plus maintenant qu'à évaporer l'éther et le chloroforme qui abandonnent ainsi les matières grasses qu'ils ont dissoutes. Mais comme on se sert de grandes quantités de ces liquides, l'évaporation est excessivement longue à se produire, il est donc préférable de les distiller ; l'éther distille à basse température : 35°, le chloroforme à une température plus élevée : 61°. Quand le liquide qui distille se concentre dans le ballon, il prend une teinte d'abord jaune pâle, puis jaune d'or. Il devient aussi très odorant, et répand une odeur désagréable, pénétrante qui dénature tout à fait celle de l'éther ou du chloroforme. On arrête alors la distillation et on met ces liquides à évaporer dans un verre de montre, sur les parois duquel se déposent les matières grasses extraites. Avec dix ballons de cultures, on obtient environ 0,08 à 0,10 centigrammes de ces extraits.

C'est là, croyons-nous, la méthode de fabrication qui donne le meilleur rendement. Nous nous sommes assuré que nous ne perdions pas de ces substances au moment de la distillation. Nous nous sommes assuré, d'autre part, que l'évaporation à la température ordinaire n'en laissait pas échapper. Nous devions faire cette recherche, car Iwanow (1) a montré que les bactéridies fabriquent des acides

(1) Iwanow, Sur la production des acides volatils dans les cultures du bacille charbonneux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1892, p. 131.

gras volatils. Or, nous avons fait évaporer à la glacière de l'éther chargé de ces matières grasses sans obtenir un rendement meilleur.

Mais ne pouvait-on pas agir d'une façon plus rapide en déposant directement dans l'éther des bactéridies cultivées sur milieu solide ? Nous l'avons essayé en nous servant de cultures sur pomme de terre que nous passions ensuite à 100°. Mais nous nous sommes heurté là à un obstacle ; les bactéridies, dès qu'elles sont en contact avec l'éther, se réunissent en une masse adhérente à la paroi du vase ne se laissant entamer qu'en partie par le liquide dissolvant.

Nous avons essayé de plusieurs moyens pour les émulsionner dans l'éther, mais sans y réussir. Il faut donc avoir recours aux cultures en milieu liquide et à la filtration. Le filtre a justement pour effet d'isoler les unes des autres les bactéridies qui ont pénétré dans ses pores et de permettre au liquide dissolvant de les attaquer isolément.

§ 3. — Caractères des extraits.

1° *Extrait éthéré.* — L'extrait éthéré est une substance jaune brûnâtre, d'apparence cireuse. Il est, en effet, onctueux, visqueux, adhérent aux objets dont il est difficile de le détacher. Il a une odeur pénétrante, désagréable, analogue à celle de quelques résines. Elle rappelle un peu celle de la colophane.

2° *Extrait chloroformé.* — Il a à peu près le même aspect, cependant il est plus gras, moins résineux. Il a une odeur toute différente, mais non moins désagréable que celle de l'extrait éthéré. Cette odeur se rapproche beaucoup de celle du vieux suif, du saindoux rance.

Ces extraits bactéridiens gardent comme ceux des autres microbes étudiés par M. Auclair la coloration par la méthode d'Ehrlich. C'est là une propriété des matières grasses, comme nous nous en sommes assuré en colorant de l'axonge étalée sur lames. Ces extraits ont d'ailleurs toutes les réactions des graisses : ils ne sont ni solubles, ni émulsionnables dans l'eau ; ils sont au contraire émulsionnables dans les alcalis et solubles dans l'huile. Nous citons ces deux dernières propriétés, car ce sont elles qui nous ont servi à utiliser ces extraits. Emulsionnés dans un alcali, nous avons pu juger de leur action locale ; en les solubilisant dans l'huile, nous avons pu juger au contraire de leur action générale sur l'organisme entier.

Technique employée pour émulsionner les extraits. — Il faut agir très prudemment quand on opère cette émulsion, car les alcalis que l'on ajoute à cet effet sont caustiques et capables de déterminer par eux-mêmes des lésions. En agissant de la façon suivante, on peut être sûr d'être à l'abri de toute cause d'erreur. Nous nous en sommes convaincu par un grand nombre d'opérations de contrôle que nous exposerons dans un chapitre ultérieur.

On ajoute à une quantité d'extrait variant de 0,01 à 0,04 centigrammes une goutte de soude au tiers, ou une à deux gouttes de carbonate de soude au dixième que l'on dilue ensuite dans un demi à un centimètre cube d'eau distillée. Les accidents observés à la suite de l'injection de ce liquide résultent des matières grasses émulsionnées et ne dépendent en rien du véhicule.

CHAPITRE II

Lésions sous-cutanées résultant de l'injection : 1° de bactéridies virulentes ; 2° de bactéridies tuées ; 3° des extraits éthérés et chloroformés.

La technique employée pour préparer et injecter nos extraits étant maintenant bien fixée, nous pouvons étudier les désordres locaux créés par eux. Nous avons fait cette étude après injection de nos toxines dans le tissu cellulaire sous-cutané, puis dans les bronches d'animaux de diverses espèces. — Mais avant de décrire la lésion locale ainsi obtenue, il nous semble indispensable de montrer la nature des réactions provoquées dans ces tissus par la bactéridie virulente et ensuite par la bactéridie tuée.

Nous passerons vite sur les effets de l'injection sous-cutanée et intra-trachéale de bactéridies virulentes, ces effets étant déjà connus ; cependant quelques points restent encore indécis, nous nous efforcerons de les préciser.

Rien, ou presque rien au contraire, n'a été fait pour ce qui touche à la bactéridie tuée. Et cependant cette étude a pour nous un grand intérêt, car en montrant que la bactéridie morte détermine des désordres anatomiques, analogues à ceux créés par la bactéridie virulente, nous prouverons par cela même que la lésion locale est bien indépendante d'une activité biologique, vitale de ces microbes, qu'elle est due au contraire à une substance entrant dans leur constitution

et résistant à une température capable de les tuer. — Or, comme nous le verrons, nos extraits résistent justement à des températures élevées.

En faisant précéder l'étude des lésions créées par nos toxines de celles créées par le microbe mort, nous suivons donc un ordre logique. C'est d'ailleurs celui qui a été suivi pour l'étude de la tuberculose et c'est parce que Koch, Maffucci, Prudden et Hodenpyl, Straus et Gamaleia (1), etc. avaient montré que le bacille mort reproduit le tubercule, que M. Auclair a eu l'idée de chercher à isoler de ce germe la substance active, et qu'il a découvert son éthéro et sa chloroformo-bacilline.

Pour montrer plus clairement l'analogie d'action qui existe entre les bactéridies virulentes, les bactéridies tuées, nos extraits éthérés et chloroformés, nous étudierons successivement cette action : 1° au niveau du tissu cellulaire sous-cutané ; 2° au niveau du poumon. — Nous avons, en dehors du tissu cellulaire choisi ce dernier organe, parce qu'il est facilement accessible et qu'il peut être d'autre part infecté primitivement, donnant naissance à une des modalités cliniques de l'infection charbonneuse.

§ 1. — Lésions sous-cutanées créées par l'injection de bactéridies virulentes.

Nous n'avons pas pour but de décrire ici l'aspect macroscopique de la lésion cutanée produite par la bactéridie charbonneuse. Il est étudié d'une façon complète dans tous les ouvrages qui traitent de cette infection. On sait qu'il

(1) Straus, *La tuberculose et son bacille*.

diffère suivant que la maladie se montre chez l'homme ou chez les animaux. Chez l'homme on peut rencontrer ou la pustule maligne ou l'œdème, ce dernier le plus rare. Chez les animaux au contraire, la pustule maligne ne se montre jamais comme lésion spontanée, elle n'a pu être reproduite que tout à fait exceptionnellement. Récemment cependant, MM. Chauffard et Lœderich ont pu déterminer chez le cobaye une escarre charbonneuse typique, en injectant à cet animal la sérosité d'une phlyctène provenant d'un malade atteint de pustule maligne. Ces auteurs « ont eu la bonne fortune de trouver justement le degré de virulence nécessaire et suffisant pour reproduire l'escarre charbonneuse, avec sa sécheresse, sa dureté, son aspect noirâtre spécial » (1).

La pustule maligne est caractérisée par un double processus réactionnel, au centre processus d'escarrification, à la périphérie processus œdémateux. Le groupement macroscopique de ces deux processus est bien connu, leur groupement microscopique est bien précisé dans la biopsie de Straus (2).

L'œdème malin, plus rare chez l'homme, est au contraire la lésion habituellement observée chez l'animal. Mais il existe encore là une différence. Chez l'homme la réaction est énorme. Elle s'est montrée telle dans le cas observé par M. Chauffard et nous-même, où elle a pu constituer à elle

(1) A. Chauffard et L. Lœderich, Etude d'un cas de pustule maligne. *Bull. de la Société médicale des Hôpitaux*, 28 octobre 1904, p. 1009.

(2) Straus, Contribution à l'anatomie pathologique de la pustule maligne. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887.

seule un réel danger. Chez certains animaux, au contraire, la lésion est tout à fait minime, la bactéridie envahit rapidement l'organisme tout entier. Aussi tous les auteurs ont-ils considéré le charbon de l'homme comme une maladie avant tout locale, le charbon des animaux comme une infection générale.

Cependant M. Chauffard et nous-même avons pu montrer par des ensemencements de quantités notables de sang pris directement de la veine du pli du coude, que la bactéridie était déjà dans la circulation générale au 4e jour de l'infection, alors que notre malade était apyrétique et nullement infecté comme état clinique.

D'autre part, on peut dans certains cas déterminer chez les animaux des œdèmes très considérables. De sorte qu'il ne faut pas considérer comme absolue cette opposition entre le charbon humain et celui des animaux. C'est toujours la même infection, mais si elle évolue chez l'homme plutôt comme une maladie locale, si, avant l'observation publiée par M. Chauffard et nous-même, on n'avait pas constaté la présence de bactéridies dans la circulation générale pendant la vie, c'est que l'organisme humain est résistant (nous ne disons pas réfractaire) au charbon ; c'est que les microbes, passant difficilement dans le sang, pullulent au point où ils ont été inoculés ; on comprend dès lors qu'ils puissent abandonner là petit à petit leurs toxines à détermination locale que nous allons démontrer être contenues dans les matières grasses qui entrent dans leur constitution.

Chez l'animal sensible au contraire, l'infection sanguine est précoce, et les poisons locaux n'ont pas le temps de se

fixer sur les tissus. Ces poisons déterminent la lésion, là où est le microbe, or le microbe est, dans l'organisme de ces animaux, essentiellement migrateur.

Mais si la réaction varie en intensité suivant le degré de résistance de l'organisme en cause, sa nature intime est au contraire toujours identique ; et cette constance dans le processus histologique observé est bien en faveur de son origine toxique. Cependant il est un point qui reste encore obscur, c'est celui de savoir pourquoi l'homme fait si souvent une lésion différente de celle des animaux, pourquoi on rencontre si fréquemment chez lui la pustule maligne. S'agit-il d'un degré spécial de virulence de la bactéridie qui sécréterait des poisons particuliers ? S'agit-il d'un mode de réaction qui tire sa spécificité chez l'homme de la qualité de ses humeurs ou de la texture intime de ses tissus ? Ce sont des questions auxquelles nous ne pouvons répondre. Nos recherches expérimentales ne nous ont jamais permis de déterminer chez l'animal, ni avec des bactéridies vivantes, ni avec des bactéridies tuées, ni avec nos extraits, la formation d'une escarre charbonneuse. Il est vrai que nous avons agi toujours avec un microbe virulent.

Nous avons étudié l'action de ce microbe virulent en injection dans le tissu cellulaire de diverses espèces animales : singe, jeune chien, lapin, cobaye. Toujours nous avons obtenu de l'œdème ; celui-ci était variable dans son intensité suivant la dose de bactéridies injectées et aussi suivant le mode sous lequel on l'injectait. En milieu liquide, les bactéridies déterminent un œdème assez limité, l'absorption des microbes se faisant très rapidement. Insérées sous la peau, chargées sur un fil de platine, elles produisent au

contraire un œdème accentué. Mais dans tous ces cas, la nature intime de la réaction a été identique. Il s'agissait d'un épanchement séreux, jaunâtre, constitué au microscope par de grosses boules albuminoïdes, quelques rares hématies, pas ou peu de leucocytes. La coloration par la méthode de Weigert ne permet pas de déceler de fibrine. Il s'agit donc d'un exsudat séro-albumineux contenant un nombre considérable de bactéridies, pas ou peu de leucocytes, pas trace de phagocytose.

Cette absence de phagocytose vis-à-vis des bactéridies virulentes chez les animaux sensibles est admise par la plupart des auteurs. Elle a même été une arme pour les adversaires de cette théorie. Mais M. Metchnikoff (1) lui-même, admet que la phagocytose ne se montre que chez les animaux réfractaires ou immunisés, et chez les animaux sensibles vis-à-vis du vaccin charbonneux seulement.

« Pour bien saisir le rôle de cette réaction (fonction phagocytaire), il est utile d'injecter sous la peau d'une oreille de lapin un peu de vaccin charbonneux, et sous la peau de l'autre oreille la même quantité de bactéridies virulentes. La différence entre la réaction dans les deux cas est saisissante. L'oreille inoculée de vaccin devient bientôt le siège d'une inflammation circonscrite avec un exsudat purulent, dont les leucocytes ont dévoré tous les bacilles. L'autre oreille, au contraire, ne présente autour du virus injecté, qu'un exsudat séreux ou sanguinolent, ne renfermant pas ou presque pas de leucocytes ; les bactéridies se trouvent à

(1) E. Metchnikoff, Ueber das Verhalten der Milzbrandbakterien im Organismus. *Arch. für path. Anat.*, CXIV, Heft 3.

l'état libre dans ce liquide et se reproduisent sans être aucunement gênées (1). »

Cependant Karg (2) aurait constaté des bactéridies phagocytées à la périphérie d'une pustule maligne humaine. N'ayant pas l'attention attirée sur ce point au moment où nous avons étudié le cas de charbon humain rappelé plus haut, nous n'avons malheureusement pas recherché attentivement la nature histologique de la réaction œdémateuse.

Conclusions. — Chez l'homme, le singe, le chien, le lapin, le cobaye, la réaction *histologique* déterminée par l'inoculation de bactéridies virulentes est identique. Il se produit à ce niveau une exsudation séro-albumineuse plus ou moins considérable sans appel leucocytaire, sans phagocytose. Au point de vue *macroscopique* la lésion est aussi analogue, elle ne diffère que par son intensité.

§ 2. — Lésion sous-cutanée créée par l'injection de bactéridies tuées.

Nous nous sommes servi pour cette étude soit de bactéridies tuées par un chauffage à 100° pendant une demi-heure, soit de bactéridies tuées par un chauffage à 120 degrés pendant vingt minutes. Nous avons obtenu dans les deux cas des résultats analogues ; cependant nous nous sommes contenté dans la majorité de nos expériences d'un chauffage à 100°, car il nous a semblé que les bacté-

(1) Metchnikoff, *Immunité*, p. 168.

(2) Karg, Das Verhalten der Milzbrandbacillen in der Pustula maligna. *Fortschritte der Medicin*, p. 529, 1888.

ridies tuées à 120° déterminaient une réaction un peu moins intense. Nous avons constaté d'ailleurs, comme nous le verrons bientôt, une atténuation de même ordre avec nos extraits éthérés et chloroformés quand nous les fabriquions avec des bactéridies chauffées à des températures aussi élevées.

La technique employée est des plus simples. — On racle avec un fil de platine plusieurs cultures de charbon sur gélose, on dépose les microbes dans un peu d'eau distillée ou de sérum artificiel, en faisant une dilution aussi concentrée que possible, on passe cette dernière à 100 ou 120 degrés, puis on en injecte un demi ou un centimètre cube.

Nous avons pratiqué ces injections chez le singe (à la face), le jeune chien (à l'aine), le lapin (à l'oreille). Nous avons pu suivre ainsi la lésion observée chez ces diverses espèces animales. Mais pour l'étude histologique du processus réactionnel nous nous sommes surtout adressé au lapin ; le singe et le chien ayant la peau trop épaisse pour permette de faire facilement et fréquemment des prises du tissu de réaction.— Au contraire chez le lapin,en pratiquant l'inoculation à l'oreille, nous avons pu suivre pour ainsi dire d'heure en heure la nature de celle-ci.

a) *Lésion macroscopique créée chez le singe par l'injection de bactéridies tuées.* — Nous n'avons fait cette étude qu'une seule fois. Nous avons injecté à la joue d'un singe une forte émulsion de bactéridies tuées à 100°. Rapidement il se produit un œdème assez volumineux qui persiste pendant deux à trois jours, puis l'œdème diminue tandis qu'il est remplacé par une tuméfaction rénitente, puis dure, constituée au microscope par des leucocytes dégénérés au

milieu desquels on retrouve de nombreuses bactéridies granuleuses. Cette tuméfaction persiste environ un mois, puis se résorbe.

b) *Lésion macroscopique créée chez le chien par l'injection de bactéridies tuées.* — L'injection pratiquée aux deux régions inguinales d'un jeune chien a déterminé des accidents identiques à ceux observés après injection de bactéridies tuées à la joue du singe. Cependant l'œdème s'est montré d'une façon moins apparente, probablement du fait de l'épaisseur de la peau chez cet animal. Par contre, l'appel et la nécrose leucocytaires se sont montrés très intenses et ont persisté pendant un mois et demi.

c) *Lésion macroscopique créée chez le lapin par l'injection de bactéridies tuées.* — Nous avons fait cette injection à l'oreille, parce que le liquide introduit dans cette région s'y limite facilement et que la réaction y reste par conséquent bien isolée.

Rapidement, en moins d'une heure, le liquide qui servait de véhicule se résorbe, mais deux ou trois heures après l'injection la région se tuméfie de nouveau. Il s'agit d'une tuméfaction molle, œdémateuse, donnant au toucher une sensation veloutée toute spéciale. Cet œdème augmente rapidement, et au bout de 12 à 24 heures il forme une véritable boule en tous points comparable à celle que l'on observe après l'injection de bactéridies virulentes. Mais vers le 3e jour l'aspect se modifie, l'œdème diminue, la tumeur du volume d'une grosse noisette devient ferme, d'abord à sa base, puis dans toute son étendue, si bien qu'au bout de la première semaine on constate une grosse boule dure, roulant sous le doigt ; celle-ci persiste environ

pendant un mois, un mois et demi, puis diminue, sans disparaître définitivement. Jamais cette tumeur ne s'évacue au dehors. On voit donc, que si pendant les premiers jours l'aspect de la lésion simule absolument celui créé à l'oreille du lapin par les bactéridies virulentes, il en diffère totalement plus tard. En étudiant maintenant histologiquement cette réaction aux divers moments de son évolution, nous allons pouvoir montrer pourquoi elle diffère dans la suite de celle créée par le microbe vivant. Mais auparavant nous ferons remarquer que,chez le singe,chez le chien et le lapin, les bactéridies tuées n'ont pas provoqué de troubles généraux. Nous n'avons observé ni amaigrissement, ni fièvre.

d) *Nature histologique du processus réactionnel créé par les bactéridies tuées.* — Pour bien étudier cette réaction, il faut la suivre pour ainsi dire d'heure en heure. C'est en employant cette méthode sur plusieurs lapins que nous avons pu voir les modifications qui se produisent.

Trois heures après l'injection, alors que le liquide vecteur est totalement résorbé, on peut par ponction retirer une petite quantité de sérosité jaunâtre, albumineuse dans laquelle on trouve quelques hématies, quelques rares polynucléaires bien conservés et un grand nombre de bactéridies, toutes extra-leucocytaires.

Mais rapidement, vers la 4e ou 5e heure, la phagocytose se produit, les polynucléaires sont abondants et englobent un grand nombre de microbes, cependant beaucoup sont encore isolés et libres. Jusqu'ici la réaction a purement été œdémateuse, mais vers la 10e heure, l'incision de la tuméfaction qui s'est produite, montre qu'elle est constituée dans la profondeur par un tissu lardacé infiltré de leucocytes, c'est

là que l'on retrouve les bactéridies phagocytées en grand nombre, tandis que la sérosité qui surnage n'en renferme que peu. Petit à petit, les leucocytes gagnent vers la surface, nagent au milieu du liquide d'œdème ; celui-ci finit par être envahi et la tumeur est transformée en un tissu rénitent, spongieux. Pendant ce temps, c'est-à-dire du 3e au 8e jour, on constate au microscope un phénomène nouveau qui apparaît vers la 50e heure. Les leucocytes qui étaient jusque-là bien conservés, sont maintenant mal limités, diffluents. Leur protoplasma forme une nappe continue sur laquelle ressortent nettement les bactéridies devenues extra-leucocytaires, et on ne retrouve la trace du stade de phagocytose que parce qu'elles sont encore par endroits groupées en amas.

C'est maintenant cet aspect que l'on constate jusqu'à la fin de la lésion, tandis que macroscopiquement on assiste à la disparition progressive de l'œdème ; la tuméfaction ne reste plus constituée que par un amas de substance blanche, épaisse, mastic qui, énucléée, se reforme rapidement, et qui est évidemment due à des leucocytes nécrosés. Disons en terminant que jamais nous n'avons pu déceler de fibrine dans ce tissu réactionnel.

Conclusions. — Nous pouvons maintenant résumer en peu de mots la nature des désordres anatomiques constatés. Ils dépendent tout d'abord de l'exsudation rapide d'une sérosité albumineuse abondante contenant des bactéridies vite phagocytées. Il se produit ensuite une irruption leucocytaire intense, qui envahit la sérosité exsudée ; enfin on constate une nécrose brusque de ces leucocytes.

On observe donc comme après l'injection de bactéridies

virulentes un œdème net ; la différence entre les aspects tant macroscopique que microscopique constatés dans les deux cas, tient uniquement à ce fait d'ordre biologique que le microbe vivant exerce vis-à-vis des leucocytes une chimiotaxie négative, tandis que celle-ci se manifeste d'une façon positive après injection de bactéridies mortes.

§ 3. — Lésion sous-cutanée créée par l'injection des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse.

Les extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse déterminent des lésions identiques. Il n'y a pas là de différence analogue à celle qui existe pour la tuberculose où chacune des deux modalités anatomiques de la maladie est créée par un extrait spécial ; la chloroformo-bacilline déterminant la phtisie fibreuse, l'éthéro-bacilline, la phtisie caséeuse. Mais il eut été bien extraordinaire que, pour le charbon, nous ayons obtenu des effets distincts avec nos deux variétés d'extraits puisque la lésion charbonneuse, créée chez les animaux par les bactéridies virulentes elles-mêmes, résulte d'un seul processus réactionnel, caractérisé uniquement par l'exsudation dans le tissu cellulaire sous-cutané d'une sérosité albumineuse.

Nous avons étudié l'action de nos extraits chez diverses espèces animales, en particulier le singe et le lapin.

C'est chez le *singe* que nous avons obtenu les lésions les plus caractéristiques, se rapprochant au point de vue objectif le plus nettement de celles qui constituent l'œdème malin de l'homme. En injectant à la joue des doses de 0,04, 0,06 centigrammes, et 0,10 centigrammes d'extrait

éthéré ou chloroformé, nous avons reproduit exactement l'aspect clinique de l'œdème malin de la face que nous avions observé chez l'homme.

Nous décrivons ici une de nos quatre expériences pour donner une idée de la lésion produite et pour montrer que nous nous sommes placé dans des conditions d'expérimentation qui ne peuvent laisser aucun doute sur la valeur des résultats acquis.

Expérience. — Le 5 *octobre*, à cinq heures du soir, nous injectons à un singe dans le tissu cellulaire sous-cutané de la joue droite 0,043 milligrammes d'extrait éthéré émulsionné dans un centimètre cube d'eau distillée, additionnée d'une goutte de soude au tiers. Nous injectons simultanément à la joue gauche la même quantité d'eau distillée additionnée aussi d'une goutte de soude au tiers, mais ne contenant pas d'extrait.

Le 6, au matin, la joue gauche est absolument normale.

A droite, au contraire, nous constatons un œdème volumineux qui déforme tout ce côté de la face : les paupières sont tuméfiées au point de constituer deux gros bourrelets œdémateux qui cachent à peu près complètement le globe oculaire ; la joue forme une tumeur volumineuse, molle, gardant l'empreinte du doigt ; enfin il se dessine sous le maxillaire inférieur et uniquement du côté droit une poche d'apparence gélatineuse se continuant insensiblement avec l'œdème de la joue. Cet œdème est légèrement rosé, mais il n'y a pas de lymphangite, il n'y a pas d'ailleurs d'infection secondaire comme nous nous en sommes assuré par un examen bactériologique précis.

Dans la soirée, la réaction devient encore plus intense, surtout aux parties moyenne et inférieure de la face, tandis qu'elle s'atténue plutôt à la partie supérieure. La paupière supérieure a repris son aspect normal, tandis que l'inférieure forme encore un gros bourrelet œdémateux ; la tuméfaction de la joue s'est accrue en même temps que sous le menton, gagnant maintenant le côté gauche, se voit une poche énorme du volume d'une orange, tremblottante, gélatineuse.

L'aspect du singe est alors caractéristique, l'asymétrie faciale est complète, les plis cutanés ont disparu et on constate la présence de trois poches œdémateuses qui s'étagent au niveau de la paupière, de la joue, sous le menton. L'examen histologique montre qu'il s'agit d'une exsudation d'un liquide séro-albumineux.

Le 7, l'aspect est à peu près identique, cependant l'œdème commence déjà à rétrocéder.

Le 8, la tuméfaction se limite au niveau de la joue au point où l'injection a été pratiquée ; en même temps on constate que la tuméfaction n'est plus œdémateuse qu'à sa surface, elle s'indure au contraire dans la profondeur.

Le 9, l'induration augmente et gagne en surface, la tumeur n'a plus au toucher le velouté qu'elle avait les premiers jours, elle est maintenant rénitente. Par ponction, on retire un magma épais blanchâtre, constitué par des polynucléaires déformés nageant dans la sérosité albumineuse.

Les jours suivants, l'aspect reste identique, cependant la réaction diminue progressivement et disparaît totalement au bout d'une quinzaine de jours. Il ne persiste plus alors qu'une petite croûte du volume d'une lentille au point où la ponction exploratrice a été faite. Nous avons pratiqué cette expérience avec l'extrait chloroformé (0,07 centigr.), en nous mettant dans des conditions identiques et nous avons obtenu une lésion semblable avec les mêmes caractères et la même intensité.

Chez un singe d'autre espèce, nous avons injecté aussi 0,10 centigrammes d'extrait éthéré et nous avons obtenu une réaction de même ordre mais beaucoup moins intense ; il est vrai que nous nous étions placé dans des conditions expérimentales un peu différentes que nous exposons à l'appendice de ce travail, au détail de cette expérience.

Chez le lapin, l'injection était pratiquée dans le tissu cellulaire de l'oreille, c'est la région qui permet le mieux de

localiser la réaction. Les quantités d'extrait employé étaient de 0,02 à 0,04 centigrammes ; le véhicule ne dépassait pas un demi-centimètre cube.

Disons tout de suite que les résultats ont été identiques et constants dans toutes les expériences.

Le lendemain de l'injection on constate une tuméfaction, molle, œdémateuse gardant l'empreinte du doigt. A l'incision il s'écoule une assez grande quantité de sérosité jaunâtre contenant de grosses boules albuminoïdes, pas de leucocytes. Cette réaction n'est nullement fibrineuse ; il s'agit uniquement d'une exsudation séro-albumineuse. La réaction du biuret est des plus nettes avec le liquide retiré par ponction.

L'œdème augmente les jours suivants mais ne forme jamais qu'une tumeur limitée et peu saillante. Nous n'avons jamais obtenu d'œdème comparable à celui que nous avons constaté chez le singe.

Mais la nature du processus réactionnel est cependant de même ordre. En effet, trois jours environ après l'injection la tumeur s'indure dans la profondeur puis l'induration augmente encore et la tuméfaction forme maintenant une masse rénitente, limitée, qui laisse écouler par incision une substance blanche, analogue à du mastic que le microscope montre constituée par des leucocytes nécrosés. La réaction persiste identique très longtemps, un mois à un mois et demi. Pendant tout ce laps de temps, la substance mastic se reforme avec une étonnante rapidité et une étonnante abondance. Enfin la tumeur se résorbe et disparaît ; jamais elle ne s'évacue au dehors par suppuration.

Conclusions. — Nous sommes à même de juger mainte-

nant des effets de nos extraits éthérés ou chloroformés au niveau du tissu cellulaire sous-cutané.

Il est un premier point hors de doute, c'est que l'extrait éthéré et l'extrait chloroformé déterminent des réactions identiques. Cette réaction est caractérisée par une exsudation séro-albumineuse plus ou moins abondante, celle-ci envahie secondairement par de très nombreux leucocytes ; ces derniers sont nécrosés très rapidement et donnent naissance à une substance blanchâtre analogue à du mastic.

La lésion obtenue avec nos extraits est absolument identique à celle créée par l'injection de bactéridies tuées. Elle est absolument semblable dans son aspect extérieur, dans son évolution et dans sa réaction histologique, et n'était la présence de bactéridies dans le second cas, il serait impossible de les différencier même microscopiquement.

Mais la lésion locale obtenue avec les extraits ou avec les bactéridies tuées ressemble-t-elle dans son aspect extérieur et dans sa nature intime à celle que détermine l'injection de bactéridies virulentes ? On peut répondre par l'affirmative ; on obtient en effet le même œdème que celui obtenu avec les bactéridies tuées et les extraits ; mais si les jours suivants il existe une différence, cela tient uniquement à ce fait que la bactéridie virulente ne détermine chez les animaux sensibles aucun appel leucocytaire, elle a vis-à-vis des leucocytes une chimiotaxie négative, tandis qu'au contraire, bactéridies tuées et extraits ont vis-à-vis des leucocytes une chimiotaxie positive ; de là appel leucocytaire considérable qui modifie l'aspect de la lésion. Il s'agit donc en somme d'un processus analogue dans son ensemble et différant seulement par la nature de la chimiotaxie vis-à-vis des leucocytes, positive dans un cas, négative dans l'autre.

CHAPITRE III

Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale : 1° de bactéridies virulentes ; 2° de bactéridies tuées ; 3° des extraits éthérés et chloroformés.

§ 1. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes.

Nous nous sommes servi uniquement de cobayes pour l'étude des lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes. Il est un point bien mis en lumière par Gramatschikoff (1), c'est la difficulté d'infecter les animaux uniquement par la voie trachéale et bronchique sans infecter la plaie. Quoiqu'ayant toujours pris de grandes précautions, nous avons souvent eu de l'infection cutanée. Nous isolions la trachée des cobayes, nous chargions cette trachée sur une sonde cannelée, et nous enfoncions l'aiguille aussi loin que possible ; nous poussions lentement le piston de la seringue pour éviter le retour du liquide ; et cependant nous avons constaté fréquemment de l'œdème au niveau de la plaie. Quoi qu'il en soit nous avons obtenu, même quand l'injection a paru purement intra-bronchique, la mort de nos animaux en 36 à 48 heures.

(1) A. Gramatschikoff, Zur Frage über die Bedeutung der Lungen als Eingangspforte von Infections-Krankheiten. — Arbeiten auf dem *Gebiete der pathol. Anat. u. Bacteriolog.* Herausgegeben von Baumgarten, I et *Hyg. Rundsch.* IV, n° 3, p. 124, février 1894.

Ce n'est pas le résultat auquel est arrivé Gramatschikoff qui n'a pas constaté la mort des animaux quand il avait pu éviter l'infection cutanée ; Morse (1) n'a pas obtenu d'infection en faisant aspirer à des animaux des spores charbonneuses. Muskatbluth (2) reproduit au contraire le charbon en introduisant la bactéridie dans la trachée. Büchner (3) produit l'infection générale par aspiration de spores ; par aspiration de bactéridies il produit une pneumonie, mais pas d'infection générale. Hildebrandt (4) ne tue pas les lapins dans la trachée desquels il introduit des bactéridies. Tchistovitch (5) tue au contraire les lapins en 48 heures par injection intra-trachéale.

Voici donc bien des opinions contradictoires, nous ne pouvons dans ce débat qu'apporter nos quelques faits personnels. Toujours nous avons tué les cobayes en expérience, tout en reconnaissant que nous avons eu dans certains cas de l'infection par la plaie. Il faut faire remarquer d'ailleurs que nous avons agi sur le cobaye, animal plus sensible au charbon que le lapin dont s'étaient servis les auteurs précédents. Nous ne faisons que rapporter rapidement ces faits car ils ne nous intéressent qu'accessoirement ; nous verrons cependant qu'ils rentrent dans notre sujet car beaucoup des

(1) Morse, *Eingangspforten der Infections organismen*, Dissert. Berlin, 1881.

(2) Muskatbluth, Neue Versuche über Infection von den Lungen. *Centralblatt für Bacteriologie*, 1887.

(3) Buchner, *Münch. medicin. Wochenschrift*, 1887-1888.

(4) Hildebrandt, *Experimentelle Untersuchungen über das Eindringen pathogener microorganismen v. d. Luftwegen und d. Lunge*. Dissert. Königsberg, 1888.

(5) Tchistovitch, Des phénomènes de phagocytose dans les poumons. *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1889.

auteurs qui soutiennent l'impossibilité d'infecter les animaux par la voie pulmonaire expliquent cette impossibilité par une phagocytose énergique qui se passerait dans cet organe. Or cette assertion nous intéresse au plus haut point, nous la discuterons dans un instant.

Les lésions macroscopiques observées à la suite de l'introduction des bactéridies virulentes par la voie trachéale sont en général légères, cependant quand l'injection est bien réussie, on constate de nombreux foyers congestifs disséminés dans les poumons ; ces blocs rougeâtres ne coulent pas au fond de l'eau.

A l'examen microscopique fait à la mort de l'animal (36 à 48 heures après l'infection) nous voyons que les alvéoles sont bourrés de bactéridies, celles-ci séparées les unes des autres par un fin pointillé, rouge après coloration à l'éosine, évidemment dû à un dépôt albumineux. Il ne s'agit pas là de fibrine ; la méthode de Weigert n'a en effet jamais permis de déceler cette substance dans le parenchyme pulmonaire ainsi infecté. Les bactéridies se voient aussi dans l'épaisseur des parois alvéolaires qui sont par places élargies et infiltrées d'œdème. Nous n'avons pas constaté d'appel leucocytaire, on voit seulement quelques rares polynucléaires dans les alvéoles. Jamais nous n'avons aperçu la moindre figure de phagocytose. Au surplus, pas de ruptures vasculaires, pas d'infarctus.

Conclusions. — Nous pouvons donc nous résumer en disant que les poumons infectés par les bactéridies virulentes à la suite d'injections intra-trachéales, ne présentent comme lésions qu'une exsudation séro-albumineuse remplissant les alvéoles et leurs parois.

Or, en niant toute phagocytose nous nous séparons de l'opinion de Muskatbluth, Hildebrandt, Tchistovitch. Nous n'avons pas plus observé dans le poumon de figures de phagocytose que nous n'en avions observées dans le tissu cellulaire sous-cutané à la suite d'injections de bactéridies virulentes.

§ 2. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies tuées.

Nous avons pratiqué les injections intra-trachéales de bactéridies en suivant une technique rigoureusement identique à celle que nous avions employée avec les bactéridies virulentes. Les cobayes en expérience n'ont jamais ressenti d'effets généraux ; nous les avons sacrifié 5 heures, 24 heures, 48 heures et 4 jours après l'injection.

Macroscopiquement les poumons étaient souvent sains, mais souvent aussi ils présentaient des foyers de congestion en tous points semblables à ceux que déterminaient les bactéridies virulentes. Au point de vue histologique, nous avons constaté la présence d'un grand nombre de bactéridies bien colorables dans les alvéoles et dans leurs parois. Il existe, comme précédemment, une abondante exsudation séro-albumineuse aussi bien dans les alvéoles que dans les parois alvéolaires. La seule différence qui existe c'est que l'infiltration leucocytaire est beaucoup plus marquée après injection de bactéridies mortes qu'après l'injection de bactéridies vivantes. Après 24 heures nous avons obtenu quelques belles figures de phagocytose ; mais celles-ci sont rares et la majorité des bactéridies reste libre. Nous avons vu la phagocytose beaucoup moins nettement dans le poumon que dans le tissu cellulaire sous-cutané.

Conclusions. — En résumé, nous constatons dans le poumon des lésions de même ordre que dans le tissu cellulaire ; il s'agit d'une exsudation séro-albumineuse, s'accompagnant d'appel leucocytaire.

§ 3. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie.

C'est encore de cobayes que nous nous sommes servi pour cette étude ; nous injections 0,02 centigrammes à 0,03 centigrammes émulsionnés dans 1/2 centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au 1/3. Les animaux n'ont présenté aucun accident général. Nous les avons sacrifiés au bout de 5, 24, 48 heures, 4 jours ; les lésions macroscopiques étaient le plus souvent légères, on notait cependant assez fréquemment des foyers de congestion pulmonaire. Microscopiquement on notait deux ordres de phénomènes réactionnels : 1° de l'œdème ; 2° de l'infiltration leucocytaire. L'œdème se voit très nettement sous forme de vacuoles, qui dissèquent et élargissent les parois alvéolaires.

L'intérieur des alvéoles est rempli par une substance amorphe, ou par un fin pointillé d'aspect absolument analogue à celui que donne M. Letulle (1) comme représentant l'œdème pulmonaire. Il ne s'agit pas là de fibrine, la méthode de Weigert ne permet pas de colorer cette substance en violet.

L'aspect leucocytaire se manifeste par une légère infil-

(1) Letulle, *Anatomie pathologique*, p. 293, fig. 73.

tration diffuse des parois alvéolaires, mais il est surtout manifeste autour des veines. Celles-ci sont entourées par un épais manchon de leucocytes. Mais rarement ces derniers sont disposés régulièrement autour de la veine ; le plus souvent il est un point où ceux-ci sont bien plus condensés et forment là un véritable nodule infectieux qui s'enfonce souvent assez loin dans le parenchyme. D'ailleurs, quoiqu'étant surtout péri-veineux ces nodules peuvent se rencontrer aussi, mais plus rarement en plein parenchyme. Les bronches sont saines.

Conclusions. — Nous voyons donc que les extraits éthérés et chloroformés déterminent dans le poumon des lésions de même ordre que les bactéridies tuées. Dans les deux cas la réaction est caractérisée par une exsudation séro-albumineuse abondante et un appel leucocytaire très net. Celui-ci se montre surtout dans les alvéoles et dans les parois alvéolaires là où se trouvent les bactéridies quand ce sont des bactéridies mortes qui ont été injectées ; quand on a injecté des extraits, au contraire, l'infiltration se voit autour des veines ou des lymphatiques, voies d'absorption probables de ces poisons.

§ 4. — Conclusions.

Nous pouvons résumer cette étude rapide des lésions créées dans le poumon par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes, tuées et des extraits éthérés et chloroformés en disant que ces extraits produisent des lésions identiques à celles que déterminent les bactéridies tuées, or ces dernières ne diffèrent de celles provoquées par l'injection

de bactéridies virulentes que parce que le microbe virulent présente vis-à-vis des leucocytes une chimiotaxie négative ; le microbe mort et les extraits provoquent au contraire un violent appel leucocytaire.

CHAPITRE IV

Opérations de contrôle touchant au mode de fabrication et d'injection des extraits bactéridiens.

Avant de formuler nos conclusions sur les effets locaux de nos extraits éthérés et chloroformés, nous désirons exposer ici les opérations de contrôle que nous avons pratiquées dans le but de démontrer :

1° Que les matières grasses obtenues par nous proviennent bien des bactéridies ;

2° Que les lésions observées sont bien dues aux poisons que contiennent ces matières grasses, et non pas au véhicule qui sert à émulsionner et à injecter ces substances ;

3° Qu'il s'agit là de lésions spécifiques et non pas d'une réaction banale de l'organisme vis-à-vis un corps étranger inerte.

1° **Les matières grasses obtenues proviennent bien des bactéridies.** — Nous nous sommes servi pour la fabrication de nos extraits du minimum de substances étrangères possible, et nous avons toujours écarté celles qui pouvaient contenir des matières grasses. Nos cultures étaient faites en eau peptonée, puis nous passions ces cultures sur un filtre de papier. Peptone et cellulose étaient donc les deux seules substances étrangères employées. Or nous nous sommes assuré qu'elles ne contenaient pas trace de matiè-

res grasses. A cet effet nous avons laissé en contact 30 grammes de la peptone que nous utilisions, avec de l'éther pendant 48 heures. Puis nous avons filtré à la bougie pour nous débarrasser de la peptone, nous avons concentré cet éther par distillation ; l'évaporation de ce dernier n'a laissé sur le verre de montre qu'un enduit impondérable. La même expérience faite avec les filtres de papier employés a été aussi négative.

Il faut tout naturellement proscrire de ces appareils tout ajustage en caoutchouc, celui-ci étant attaqué et solubilisé par l'éther, le chloroforme, le xylol, etc.

En prenant ainsi certaines précautions on peut être assuré d'obtenir des extraits purement bactéridiens, Pour en avoir une preuve encore plus absolue nous avons plusieurs fois refait toute la série des manipulations non plus avec des ballons ensemencés, mais avec des ballons d'eau peptonée simple ; jamais dans ces cas nous n'avons obtenu d'extrait.

2° **Les lésions observées sont bien dues aux poisons que contiennent ces matières grasses.** — Les extraits éthérés et chloroformés ne sont pas solubles ni émulsionnables dans l'eau malgré une trituration prolongée, d'autre part on ne peut pas songer à les insérer sous la peau, on produit ainsi un désordre mécanique qui gêne l'observation. M. Auclair a montré que pour les injecter il suffit d'alcaliniser légèrement l'eau avec de la soude ; les extraits s'émulsionnent alors très facilement, mais il faut être prudent dans l'addition de l'alcali car il est capable à certaines doses, de déterminer par lui-même des lésions de nécrose. Cependant

par de nombreuses injections nous nous sommes assuré qu'une goutte de soude au tiers, ou deux gouttes de carbonate de soude au dixième ajoutées à un centimètre cube d'eau distillée, quantités qui suffisent à émulsionner les extraits, ne produisent pas de lésions par elles-mêmes. D'ailleurs, quand nous voulons juger de l'effet local nous injectons toujours de petites quantités de liquide. Nous n'avons ainsi jamais observé de lésions de nécrose analogues à celles que produisent ces alcalis à fortes doses. Quand on a soin de faire l'injection à la racine de l'oreille où le tissu cellulaire est lâche, l'absorption du véhicule est presque instantanée. Inutile de dire qu'avant d'injecter nos extraits nous laissions toujours évaporer complètement l'éther ou le chloroforme.

Il ne peut donc y avoir aucune cause d'erreur dans l'interprétation des lésions observées. Elles dépendent de nos extraits et ceux-ci proviennent bien des corps bactéridiens.

3° **Il s'agit là d'une lésion spécifique.** — Il nous reste à montrer maintenant que ces extraits bactéridiens n'agissent pas seulement dans les tissus comme un corps étranger inerte, mais bien comme un corps spécial, spécifique. Il semble étrange au premier abord de décrire comme spécifique une réaction aussi banale que l'œdème. Cependant il est bien certain que l'organisme n'a que peu de moyens de réagir vis-à-vis des infections et les processus observés sont d'ordre assez restreint. Quand on a dit qu'il se produit de la congestion avec exsudation séro-albumineuse, ou séro-fibrineuse, de l'infiltration leucocytaire, parfois des ulcérations destructives avec les divers types de dégénérescence, on a cité à peu près tous les moyens de

réagir de l'organisme vis-à-vis des infections. Or celles-ci sont fort nombreuses et déterminent chacune des lésions spéciales, particulières, qui les font distinguer du clinicien et de l'histologiste, et c'est parce que cette distinction est possible que l'on peut dire qu'une lésion donnée est spécifique de telle infection microbienne. C'est que la spécificité ne dépend pas uniquement de la nature des processus réactionnels, mais de leur groupement, de leur évolution, de leur topographie, etc... La spécificité lésionnelle dépend donc d'un grand nombre de facteurs qui ont été fixés par l'observation. Aussi peut-on dire que, d'après sa topographie, sa limitation, son évolution, l'œdème peut être la lésion spécifique du charbon.

Or ce qui prouve bien la spécificité ainsi comprise de nos extraits, c'est que les poisons retirés par M. Auclair d'autres microbes, par une technique absolument semblable ont déterminé des lésions tout à fait différentes représentant celles que détermine le microbe qui leur a donné naissance.

D'autre part l'injection dans le tissu cellulaire des animaux de corps inertes : pierre ponce finement pulvérisée, tripoli, poudre de talc, etc., n'ont pas déterminé de lésions appréciables. Mais il restait à chercher si d'autres matières grasses, non extraites de microbes celles-là, ne déterminaient pas de lésions analogues; nous avons à ce point de vue injecté à l'oreille de lapins et à la joue d'un singe de l'axonge en émulsion dans de l'eau additionnée d'une goutte de soude au tiers, et nous n'avons pas ainsi déterminé de lésions appréciables. Il en a été de même après injection d'extraits éthérés et chloroformés d'axonge. Nous verrons dans la seconde partie de notre travail que nous avons employé

à maintes reprises l'huile d'olive ou l'huile de sésame comme véhicules pour injecter nos extraits à l'état soluble ; nous n'avons observé après injection sous-cutanée à l'oreille des lapins que des lésions très passagères et très minimes ; l'huile et les extraits qu'elle dissolvait ont été absorbés avec une grande rapidité sans laisser de lésion locale appréciable.

Ces recherches méritaient d'être faites et mériteraient même d'être multipliées car il est un point que nous avons laissé complètement dans l'ombre, c'est celui de savoir si les extraits agissent pour produire la réaction indiquée par leur nature graisseuse, ou par des poisons de nature indéterminée mais ayant une grande affinité pour les matières grasses, poisons que l'on pourrait appeler « *adipophiles* ».

Or, tout récemment, MM. Jean Camus et Pagniez (1) ont étudié les lésions que reproduit l'injection d'acides gras de provenances diverses, principalement ceux extraits de l'huile de lin et de l'huile de croton. Sous la peau ils ont obtenu la formation d'escarres et d'ulcérations torpides à cicatrisation lente. Ils ont suivi surtout les lésions déterminées par l'injection dans la trachée de chiens et de lapins de ces acides gras, soit purs, soit mélangés à l'huile et ils ont obtenu avec certaines doses, des lésions assez analogues à celles obtenues par M. Auclair par injection intra-trachéale de la chloroformo-bacilline.

MM. Jean Camus et Pagniez recherchant d'autre part dans les extraits du bacille de Koch isolés par M. Auclair la présence d'acides gras libres, en ont décélé des doses

(1) Jean Camus et Ph. Pagniez, Recherches sur les acides gras. Lésions expérimentales. *Société de Biologie*, séance du 4 novembre 1905.

élevées. Ils concluent dans leur travail : « Qu'en raison de ces faits, il paraît vraisemblable d'attribuer aux acides gras d'origine microbienne, en particulier à ceux du bacille tuberculeux, un rôle important dans la production des lésions locales dont ces organismes sont la cause. » Ces recherches fort intéressantes montrent donc que, tout au moins pour ce qui a trait au bacille de Koch, les extraits microbiens agissent par les acides gras qu'ils contiennent. Mais les réactions locales étant éminemment différentes pour chaque espèce microbienne, il est naturel de conclure que ces acides gras fabriqués par les divers microbes sont différents, eux aussi. Or la distinction de ces acides doit être chose fort délicate, peut-être même impossible dans l'état actuel de nos connaissances, étant donnée la faible quantité de matière extractive sur laquelle on doit agir, surtout lorsqu'on s'adresse à d'autres microbes qu'au bacille de Koch.

Mais puisque les extraits graisseux de la bactéridie sont capables de reproduire la lésion locale, il restait à faire la contre-épreuve et à voir si les bactéridies dégraissées perdaient tout pouvoir pathogène local. Nous avons fait cette recherche à deux reprises, mais sans résultat. Il est en effet très difficile de dégraisser complètement les microbes, et il est, d'autre part, très difficile d'injecter les microbes traités par l'éther sans injecter en même temps un peu d'extrait ; l'éther est tellement volatil que malgré des lavages répétés, il abandonne toujours une certaine quantité d'extrait.

CONCLUSIONS DE LA PREMIÈRE PARTIE

A. — Les extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse ont une action identique.

B. — Ces extraits émulsionnés, mais non solubilisés, reproduisent la lésion locale de l'œdème malin, mais ne déterminent aucun trouble dans l'état général.

C. — Cette lésion étudiée : 1° dans le tissu cellulaire sous-cutané ; 2° dans le poumon, s'est montrée *absolument identique* à celle créée par les bactéridies tuées. Elle ne diffère de celle créée par les bactéridies virulentes que parce que ces dernières ne déterminent pas d'attraction leucocytaire, tandis que les bactéridies tuées et nos extraits bactéridiens produisent un appel leucocytaire très net.

D. — Ces matières grasses contiennent des poisons à action locale spécifique. On observe en effet des lésions toutes différentes quand on injecte les matières grasses extraites d'autres corps bactériens, et quelques autres matières grasses non microbiennes.

DEUXIÈME PARTIE

ACTION GÉNÉRALE DES POISONS BACTÉRIDIENS

CHAPITRE PREMIER

Toxines charbonneuses à détermination générale.

§ 1. — Historique.

Dans cette seconde partie de notre travail nous nous proposons d'étudier l'action générale des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse. Jusqu'ici nous n'avons envisagé que leurs effets locaux ; nous les injections en effet émulsionnés et non solubilisés et ils agissaient alors au lieu même où ils étaient déposés, mais n'avaient aucune influence sur l'état général.

Dans cette seconde partie au contraire, nous voulons montrer l'action sur l'organisme tout entier de ces poisons solubilisés. Mais avant de donner nos résultats nous désirons décrire rapidement les diverses toxines à détermination générale isolées jusqu'ici. Nous ne ferons qu'une analyse de ces travaux ; ils ont demandé à leurs auteurs de

longues recherches et ne peuvent, on le conçoit facilement, être reproduits que par une série d'expériences nombreuses et minutieuses.

Dans cet historique rapide des toxines charbonneuses nous ne nous occuperons que des toxines à détermination générale. Nous avons en effet cité précédemment les recherches de Sydney-Martin, de Nencki et Drymont et surtout de Büchner, recherches qui avaient trait aux substances agissant localement dans l'infection charbonneuse.

Toussaint (1), en 1880, réussit à immuniser des animaux contre le charbon en leur injectant du sang de rate chauffé à 55° pendant 10 minutes. Il croyait avoir ainsi tué les bactéridies et avoir déterminé une immunisation par des substances chimiques ; en réalité il n'avait pas tué les microbes, il les avait seulement atténués par ce chauffage et sa méthode rentre dans le cadre des immunisations pasteuriennes par bactéridies atténuées.

M. Chauveau (2) pense qu'il existe dans le sang des animaux charbonneux des substances chimiques capables de prévenir contre la maladie. Et cet auteur s'appuie en particulier sur ce fait que les agneaux qui naissent de brebis inoculées du sang de rate dans les derniers mois de leur gestation, sont réfractaires au charbon ; or le placenta arrêterait les bacilles contenus dans le sang maternel comme le ferait un filtre et seules les substances solubles du sang pourraient le traverser. C'est donc à l'action de celles-ci que serait due l'immunité dont les agneaux sont doués à

(1) Toussaint, *Bulletin de l'académie de médecine*, 1880.

(2) Chauveau, *Académie des Sciences*, 1880 ; *Annales de l'Institut Pasteur*, février 1888, p. 66.

leur naissance. Mais Straus et Chamberland ont établi, contrairement à l'opinion de Braüel et de Davaine, que le bacille du charbon passe de la mère cobaye à ses petits et Malvoz a confirmé le fait sur les lapines ; de sorte que les expériences de Chauveau ne démontrent pas d'une façon absolument rigoureuse la possibilité d'une immunisation par les substances chimiques.

MM. Roux et Chamberland (1) arrivent à conférer l'immunité en injectant du sang de rate dont ils ont tué les bactéridies par un chauffage répété à 58°, dans des tubes fermés. L'immunité ainsi obtenue a toujours été peu durable. Il s'agit là d'une immunisation par substances chimiques.

Mais dans tous ces travaux les auteurs n'avaient pas cherché à déterminer la nature des substances chimiques capables de conférer l'immunité. En 1889, Hankin (2) cultive la bactéridie virulente dans une solution d'extrait de viande de Liebig à laquelle il ajoute de la fibrine. Il sature par le sulfate d'ammoniaque ce liquide filtré, et il obtient une *albumose* qui ne détermine d'ailleurs aucun phénomène d'empoisonnement chez les souris, les lapins et les cobayes mais qui, injectée à faible dose au lapin, confère à cet animal une immunité immédiate contre le charbon. De fortes doses de cette albumose loin de conférer l'immunité rendent au contraire l'animal plus sensible au charbon.

(1) Roux et Chamberland, Sur l'immunité contre le charbon conférée par des substances chimiques. *Annales de l'Institut Pasteur*, août 1888, p. 405.

(2) Hankin, On Immunity produced by an albumose isolated from anthran Cultures. *British medical Journal*, 12 octobre 1889 ; On the Conflict between the organism and the microbe, *British medical Journal*, 12 juillet 1890.

Petermann (1) isole l'albumose décrite par Hankin, il n'en obtient aucun effet préventif immunisant.

Hankin et Wesbrook (2), dans un nouveau mémoire, expliquent les insuccès obtenus par Petermann. Ils montrent que dans les conditions de culture qu'ils avaient employées, il peut se former dans ces cultures deux sortes d'albumoses; l'une résulte de l'action d'une diastase protéolytique secrétée par la bactéridie sur les substances protéiques que contient le milieu de culture. Cette albumose n'a aucun pouvoir immunisant, au contraire elle est toxique. Mais la bactéridie est capable de fabriquer une albumose directement, sans l'intervention d'une diastase et c'est elle qui est douée d'un pouvoir immunisant. Pour l'isoler des autres substances analogues d'origine diastasique il suffit de cultiver le charbon dans une solution de peptone pure ; dans ces conditions la bactéridie peut bien produire ses diastases, mais celles-ci ne trouvent pas dans le milieu de protéides qu'elles puissent décomposer pour fournir des albumoses de digestion. Néanmoins après que cette solution a servi pour la culture du charbon, elle donne avec le sulfate d'ammoniaque un précipité d'albumose immunisante. Celle-ci, à des doses très petites confère aux souris le pouvoir de résister à la maladie charbonneuse, pouvoir qui quelquefois peut aller jusqu'à l'immunité complète, mais le plus souvent se manifeste par une survie considérable. Cette albumose

(1) Petermann, Recherches sur l'immunité contre le charbon au moyen des albumoses extraites des cultures. *Annales de l'Institut Pasteur*, janvier 1892.

(2) Hankin et Wesbrook, Sur les albumoses et les toxalbumines sécrétées par le bacille charbonneux. *Annales de l'Institut Pasteur* 1892, p. 633.

à doses ordinaires ne produit aucun symptôme d'empoisonnement chez les animaux sensibles au charbon, chez les animaux qui jouissent d'une immunité relative contre la maladie charbonneuse comme le rat, la grenouille, l'écrevisse, cette albumose agit comme une toxine énergique. Les jeunes rats, au contraire, sensibles au charbon, ne sont pas empoisonnés par cette substance.

L. Marmier (1) s'étonne des résultats obtenus par Hankin et Wesbrook. Il est singulier en effet, que les animaux réfractaires au charbon soient les plus sensibles à la toxine et qu'inversement cette substance ne soit nullement active vis-à-vis des animaux les plus sensibles à la maladie. Marmier isole à son tour des cultures en eau peptonée de bactéridies charbonneuses virulentes une substance toxique. Pour l'obtenir il faut faire la culture à basse température. L'auteur a soin d'ailleurs de débarrasser le milieu peptoné de toute trace d'albumose avant de faire l'ensemencement. Après quelques jours de culture à basse température il filtre, puis sature le liquide par du sulfate d'ammoniaque. Il recueille par filtrage ce précipité, le dissout dans l'eau et le débarrasse par dialyse du sulfate d'ammoniaque qu'il peut contenir. Il le précipite ensuite par l'alcool et le dessèche.

Il obtient ainsi une substance amorphe, pulvérulente, de couleur brun foncé qui n'a pas les réactions connues des matières albuminoïdes ; en outre, elle ne transforme ni l'empois d'amidon, ni les solutions de sucre de canne, ni les solutions de glycogène.

(1) Louis Marmier, Sur la toxine charbonneuse. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 533.

Inoculée aux animaux sensibles au charbon, elle détermine, à certaines doses, la mort de l'animal par cachexie. Les animaux réfractaires à la maladie charbonneuse paraissent au contraire presque indifférents à la toxine. Il semble en être de même des lapins immunisés contre le charbon par des virus atténués. Cette substance perd de sa puissance, mais n'est pas complètement détruite par le chauffage à 110°. En employant des doses convenables et graduées de cette toxine, on peut arriver à immuniser des animaux contre le charbon.

Cette substance ne se forme pas dans les cultures de bactéridies dans d'autres liquides tels que le sérum de bœuf, les bouillons de cheval, de bœuf ou de veau. Au contraire, on peut l'extraire de bactéridies cultivées sur milieu solide. Pour arriver à ce résultat il suffit de racler les microbes qui ont poussé à la température de 36° à 37° sur de la gélose ou de la pomme de terre. On les met à macérer pendant 24 heures au moins dans de l'alcool à 20° additionné de quelques gouttes d'éther. Puis le liquide filtré est soumis à l'action de l'alcool fort. Le précipité est séparé par filtration, lavé à l'alcool absolu puis à l'éther, après quoi il est desséché dans le vide en présence de l'acide sulfurique. On obtient ainsi une substance pulvérulente, agissant de la même façon et avec la même intensité que la toxine rétirée des cultures dans le milieu de peptone.

Marmier explique cette différence de rendement en toxine suivant le milieu de culture employé de la façon suivante : la toxine est primitivement contenue à l'intérieur des bacilles ; elle s'en échappe ensuite peu à peu par dialyse quand les microbes se trouvent en contact de certains liquides

comme l'alcool à 20° ou encore le milieu de peptone. Mais il ne s'agit pas là d'une simple question de dialyse, la température à laquelle la culture est faite joue aussi son rôle ; nous avons vu en effet que ce sont les cultures en peptone à basse température (20°) qui donnent le meilleur rendement, tandis que pour les cultures sur milieux solides il faut employer des bactéridies ayant poussé à 36° ou 37°. Quand on examine le liquide dans lequel a poussé la bactéridie à 36° on voit qu'il est faiblement toxique, les microbes au contraire ont conservé à leur intérieur une notable quantité de poison ; pour la culture faite à 20°, le liquide contient une grande quantité de toxine et les bacilles n'en contiennent pas la moindre trace. A 20° la bactéridie est certainement dans de mauvaises conditions d'existence, beaucoup d'individus meurent avant que les cultures soient traitées pour l'extraction de la toxine, laissant ainsi diffuser dans le liquide où elles se sont développées la totalité des poisons qu'ils renfermaient.

Nous avons analysé successivement les travaux de Hankin, Petermann, Hankin et Wesbrook, Marmier parce qu'ils s'enchaînent, se critiquent et se complètent, mais entre temps ont paru d'autres recherches dans le même ordre d'idées d'ailleurs. Brüger et Fraenkel (1) extraient des cadavres d'animaux morts de charbon une toxalbumine qui détermine des symptômes d'empoisonnement quand elle est injectée à d'autres animaux. Sidney-Martin (2) isole

(1) Bruger et Fraenkel, Untersùchùngen über Bakteriengifte. *Berliner klinische Wochenschrift*, 1880, nos 11 et 12.

(2) Sidney-Martin, The chemical productes of the growth of Bacillus Anthracis and their physiological action. *Proceedings of the Royal Society of London*, mai 1890.

aussi une anthrax-albumose qui produit chez les souris des symptômes d'empoisonnement tout à fait comparables à ceux que l'on observe après l'inoculation du bacille du charbon.

Lando-Landi (1) retire aussi des albumoses des cultures de charbon et du sang des animaux ayant succombé à cette maladie, mais il ne leur trouve pas de propriété toxique ou vaccinale. Il extrait aussi du sang de lapin charbonneux, trois espèces de bases dont une a déterminé chez les souris des convulsions tétaniques,du coma, et la mort. Cette base paraît appartenir à la famille des bases carbo-pyridiques ou carbo-quinoléiques ; elle n'existe pas dans le sang du lapin sain.

De Christmas (2) montre que les organes de lapins rendus réfractaires au charbon contiennent des substances qui sont capables d'empêcher le développement de cette maladie chez un nouvel animal. Pour extraire ces substances il hache les organes, il ajoute de la glycérine, puis il précipite par l'alcool fort. Du fait de la solubilité dans la glycérine de cette substance, du fait aussi de la destruction de son pouvoir bactéricide par un chauffage à 75°, il pense qu'il s'agit là de diastase formée dans l'organisme du lapin sous l'influence des substances vaccinantes.

Enfin récemment trois auteurs italiens ont étudié l'action de nucléines, nucléo-albumines, nucléo-protéides extraites de la bactéridie charbonneuse.

(1) Lando-Landi, *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1891, p. 632.

(2) De Cristmas, Substances morbicides du sérum et des organes d'animaux à sang chaud. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 487.

Tiberti (1) extrait du bacille du charbon une nucléo-protéide qu'il injecte à douze lapins, ceux-ci reçoivent ensuite du charbon virulent ; huit survivent.

Galeotti (2) poursuivant, indépendamment de cet auteur, des recherches analogues, montre qu'en traitant les lapins avec cette nucléo-protéide extraite de la bactéridie, il se produit chez ces animaux une immunité active par laquelle leur sérum acquiert des propriétés préventives et curatives.

Paladino-Blandini (3) étudie l'action d'une nucléine obtenue par lui en faisant macérer des spores charbonneuses dans une solution de soude à 5 0/0. L'injection de cet extrait sodique dans la veine de l'oreille détermine la mort du lapin par coagulation du sang dans les vaisseaux ; l'inoculation sous-cutanée de cette substance au cobaye, est suivie d'une réaction locale caractérisée par l'apparition d'un œdème circonscrit, qui se réduit ensuite à un nodule s'ulcérant secondairement. L'animal meurt cachectique en 3 à 27 jours. L'auteur n'a pu immuniser les animaux avec cette nucléine.

Il étudie alors l'action d'une nucléo-albumine qu'il pré-

(1) Tiberti, Sul potere immunizzante del nucleo-proteide estratto dal bacillo del cabonchio Ematico. *Giornale il Policlinico*, 1903 ; A Proposito di un recente Lavaro del Dott Paladino-Blandini sulla vaccinazione chimica anti-carbonchiosa. *Clinica Moderna*. Pise, 1er juillet 1903.

(2) Galeotti, Sul potere vaccinante dei nucleoproteide estratti dagli organi di animali immunizzati, Ier *Congrès italien de Médecine de Turin*, octobre 1903. *Gazetta medica italiana*, anno III, 1902, nº 44, p. 448 et *Il morgagni*, mars 1903.

(3) Paladino-Blandini, Tentatives de vaccination chimique anti-charbonneuse. *Riforma medica*, 20 mai 1903.

cipite ensuite par l'acide acétique. Il ne lui constate, non plus, aucun pouvoir immunisant.

§ 2. — Recherches personnelles.

Par le résumé rapide des recherches faites sur les toxines charbonneuses à détermination générale, on voit que les procédés d'extraction sont assez complexes : c'est que le milieu de culture dans lequel la bactéridie a cultivé pendant plus ou moins longtemps est très peu toxique. Nous avons pu inoculer à des lapins des doses assez considérables d'eau peptonée dans laquelle avait cultivé la bactéridie charbonneuse pendant plus ou moins longtemps sans déterminer d'autre accident qu'un peu d'hyperthermie. Il est vrai de dire que nous n'avons fait ces expériences qu'avec des cultures développées à une température de 37° et non comme l'a fait M. L. Marmier avec des cultures développées à basse température.

L'eau peptonée simple, stérilisée n'est pas toxique, on en injecte facilement à un lapin, en une seule fois, 50 centimètres cubes sans produire aucun accident.

L'eau peptonée dans laquelle la bactéridie a cultivé pendant deux, six, huit et dix-huit jours à 37°, a été injectée à la même dose (50 cent. cubes en une seule fois), dose parfois répétée à intervalles plus ou moins espacés ; elle n'a jamais déterminé d'autres accidents qu'un peu de douleur locale, et une légère élévation de la température. Il est inutile de dire que les cultures avaient été filtrées à la bougie sans chauffage préalable.

Enfin nous avons ensemencé dans un petit ballon de 150 centimètres cubes d'eau peptonée des bactéridies viru-

lentes. Nous avions auparavant ajouté à ce milieu de culture une forte émulsion de moelle osseuse fraîche que nous venions d'extraire de jeunes lapins et que nous avions stérilisée par un chauffage à 50°.

La culture est restée à l'étuve à 37° pendant 14 jours sans avoir présenté d'infection secondaire. Puis nous avons filtré à la bougie et injecté 60 centimètres cubes de ce liquide à un lapin de 3 kilos. Cette injection n'a déterminé aucun accident. Nous avions voulu rechercher dans cette expérience si les produits de sécrétion leucocytaire n'avaient pas une influence attractive sur les produits de sécrétion bactéridienne et ne pouvaient pas concourir à faciliter la diffusion de ces produits.

§ 3. — Sérothérapie curative.

L'absence de toxicité du liquide dans lequel la bactéridie a cultivé, la discordance dans les résultats obtenus par les auteurs qui ont cherché à isoler une toxine active de ce milieu de culture prouvent bien que le microbe garde en lui ses poisons et que, s'il les abandonne, il ne les laisse diffuser que très difficilement et dans des conditions spéciales. D'ailleurs, les albumoses ou les corps analogues décrits jusqu'ici ne se sont montrés doués que de propriétés toxiques ou préventives suivant les doses employées. Seul Galeotti, aurait pu en traitant des lapins avec une nucléo-protéide extraite de la bactéridie donner à leur sérum des propriétés curatives.

Les recherches de sérothérapie curative se sont poursuivies dans une autre voie. On a tout d'abord cru que le sérum des animaux naturellement réfractaires, possédait un pou-

voir bactéricide qui lui donnait des qualités curatives ou tout au moins protectrices chez les animaux sensibles. Behring (1), Ogata et Josuhara eurent des résultats positifs. Behring, par exemple, injecta à des souris des spores charbonneuses mélangées à du sérum de rat et vit que ces souris ne présentaient aucun accident.

Mais les recherches de Roux et Metchnikoff (2) apprirent que cette immunité naturelle du rat vis-à-vis l'infection charbonneuse n'était pas absolue ; et d'autre part, les recherches d'Enderlen, de Petermann, de Roudenko, d'Enriquez et Serafini, de Terni, apprirent que si ces animaux (rat, chien, poule, animaux à sang froid) étaient réfractaires dans une certaine mesure au charbon, en aucun cas leur sérum ne présentait la moindre action protectrice pour les animaux sensibles et qu'il était par suite impossible de l'employer comme agent préventif ou curateur (3).

(1) Behring, Propriétés bactéricides du sang de rat. *Centralblatt f. klin. Medicin*, 1888, p. 681 ; Immunisation par le sérum de rat. *Zeitschrift f. Hygiene*, 1890, p. 465.

(2) Roux et Metchnikoff, Propriétés bactéricides du sang de rat. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 479.

(3) Bibliographie prise dans l'ouvrage de M. Landouzy, *Sérothérapie des maladies infectieuses*, p. 297.

a) Enderlen, Contrôle des expériences du professeur Ogata. *Münchener medicinische Wochenschrift*, 1891, n° 18.

b) Petermann, La substance bactéricide du sang du professeur Ogata. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 506.

c) Roudenko, Influence du sang de grenouille sur la résistance des souris au charbon. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1891, p. 515.

d) Enriquez et Serafini, Sur l'action du sang des animaux réfractaires injecté aux animaux sensibles au charbon. *Ann. de l'Institut d'hyg. expérimentale de l'Université de Posen*, 1891.

e) Terni, Le sérum des animaux à sang froid dans l'infection charbonneuse. *Communication au XI^e^ Congrès internat. de médecine de Rome*, 1894.

Puisque le sérum des animaux naturellement réfractaires ne possédait aucune des qualités requises, les auteurs ont cherché à les faire naître par un autre procédé. Ils ont immunisé très fortement par la méthode pasteurienne des animaux sensibles, puis ils leur ont injecté des bactéridies très virulentes. Ils ont ainsi donné au sérum de ces animaux des propriétés non seulement préventives, mais aussi curatives. Deux chercheurs ont suivi séparément et parallèlement cette voie.

M. Marchoux (1) en France, publie ses résultats en novembre 1895, tandis que M. Sclavo (2) en Italie, les publie en octobre de la même année. Leurs résultats sont d'ailleurs identiques. M. Marchoux en effet, en saturant de bactéridies virulentes des moutons fortement immunisés constate que leur sérum a une puissance préventive très nette; un centimètre cube de sérum protège en effet un lapin de 2 kilos contre un quart de centimètre cube de culture de charbon virulent. Cette immunisation préventive a une action très prompte ; huit heures après l'inoculation de sérum la protection est déjà efficace mais elle est de courte durée, et trois jours après l'injection son rôle protecteur a déjà cessé. Ce sérum est aussi curateur. Sept à huit centimètres cubes empêchent l'infection de se développer chez un lapin dont le traitement a débuté sept heures après l'inoculation du virus ; vingt-quatre heures après l'infection, l'intervention est encore suivie de succès si on emploie des doses de sé-

(1) Marchoux, Sérum anti-charbonneux. *Société de Biologie*, 24 novembre 1895 ; *Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1895.

(2) Sclavo, La Sérothérapie de la pustule maligne. *VI^e^ Congrès de la Société italienne de médecine interne à Rome*, octobre 1895.

rum plus considérables (10 à 12 cent. cubes). Mais dès que l'œdème est perceptible, il est trop tard et la maladie suit son cours ; on n'observe plus et dans quelques cas seulement, qu'une survie de quelques heures ou de quelques jours sur les animaux témoins. Cet échec est dû, pour M. Marchoux, à ce que le sérum employé n'est pas antitoxique. Il détermine une phacocytose marquée, mais la vitalité des germes persiste plus que l'action excito-phagocytaire ; celle-ci est insuffisante à entraver l'infection.

M. Sclavo immunise de même des chèvres ; il constate que leur sérum jouit pour le lapin de propriétés non seulement préventives, mais curatives. Cinq à dix centimètres cubes de ce sérum injectés douze heures après l'inoculation d'une dose de charbon capable de tuer les animaux témoins en 48 heures, ont suffi pour empêcher les animaux infectés de mourir. Si le sérum n'est administré que 24 heures après l'inoculation des bactéridies virulentes, les animaux traités meurent mais avec une survie de 4 jours sur les témoins.

Ces résultats encourageants furent le point de départ d'un grand nombre de travaux (Panu et Trapani. — Francesco San Felice qui emploie le sérum de chiens fortement immunisés), etc.

Le sérum anti-charbonneux fut employé chez l'homme et et il parut depuis cette application, surtout en Italie, un grand nombre d'observations de guérison de charbon humain après l'emploi de ce sérum (1). Mais le charbon hu-

(1) Ach. Scalvo, Sulla stato presente della sieroterapia anticarbonchiosa, *Atti dagli R. Accademia dei Fisiocritici di Siena*, 1903. Analysé dans le *Bullet. Inst. Pasteur*, 30 mai 1903, p. 305.

main, surtout la pustule maligne guérit fréquemment indépendamment de toute sérothérapie, de sorte qu'il est encore difficile d'être fixé d'une façon absolue sur la valeur de ce sérum en clinique humaine.

Dans le cas d'œdème malin observé par M. Chauffard et nous-même nous avons tenté cette sérothérapie. Il nous a été très obligeamment fourni par l'Institut Pasteur un sérum fabriqué suivant une technique analogue à celle de Sclavo, ayant les mêmes propriétés biologiques que le sérum de cet auteur et donnant chez les animaux traités des résultats identiques.

Nous avons pu commencer le traitement au 4e jour de l'infection charbonneuse. Nous avons injecté dès ce moment par la voie sous-cutanée 75 centimètres cubes de ce sérum. Les jours suivants nous faisons encore quotidiennement, toujours par la même voie, une injection de 40 centimètres cubes. Malgré ce traitement intensif auquel nous avions associé d'ailleurs des injections locales de fortes doses de solution iodo-iodurée, cet homme s'est éteint au 8e jour de la maladie.

Nous ne tirons, naturellement de cet insuccès, aucune conclusion ; notre cas était tout particulièrement grave, puisque dès le 4e jour de l'infection nous avions constaté la présence de bactéridies dans le sang du malade.

CHAPITRE II

Action générale des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse.

Nous avons recherché si les extraits graisseux de la bactéridie, doués de propriétés toxiques locales si nettes, n'étaient pas doués une fois solubilisés, de propriétés toxiques générales.

§ 1. — Solubilisation des extraits graisseux.

Les extraits graisseux de la bactéridie ne sont pas solubles dans l'eau. On ne pouvait songer à les injecter en solution dans les dissolvants habituels des graisses : éther, chloroforme, xylol. L'éther et le chloroforme tuent les lapins rapidement à doses même légères (1 cc.). Le xylol, moins toxique, détermine au point d'inoculation des désordres locaux très graves qui peuvent fausser les résultats.

Nous nous sommes adressé alors à un autre dissolvant des matières grasses, l'huile. Nous nous sommes servi soit d'huile d'olive stérilisée, soit d'huile de sésame. Un demi ou un centimètre cube de ces liquides sont capables de dissoudre 2, 3 et 4 centigrammes de nos extraits. Si la solubilisation ne se produit pas d'une façon complète, on chauffe légèrement pour la hâter et la parfaire.

Mais il fallait nous assurer que l'huile aux doses employées (1 cc.) n'était pas toxique. Nous en avons injecté

des quantités notablement plus élevées à plusieurs lapins sans jamais constater le moindre accident.

§ 2. — **Action générale toxique des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse.**

L'action générale toxique de nos extraits ainsi solubilisés s'est manifestée d'une façon très différente dans la suite de nos expériences.

Au début, elle s'est montrée très grande puisque nous avons pu tuer rapidement un certain nombre de lapins avec des doses de 1 cent. 1/2 à 3 centigrammes d'extrait ; plus tard elle s'est montrée légère, pour devenir nulle dans la suite. Cette atténuation progressive des effets toxiques obtenus doit s'expliquer par l'atténuation parallèle de la race bactéridienne qui fournissait ces poisons. La bactéridie employée provenait directement du sang du malade observé par M. Chauffard et nous-même. Jamais dans cette première série d'expériences elle n'a été passée par des animaux. Or comme à ce moment nous nous occupions surtout de l'action locale des extraits, les expériences se rapportant à l'étude de leur action générale étaient forcément assez espacées de sorte que la bactéridie très virulente au début puisqu'elle provenait d'un organisme résistant au charbon, s'était atténuée dans la suite en cultivant sur des milieux artificiels. Nos expériences sont absolument concordantes avec cette hypothèse, car plus la bactéridie était employée à une époque éloignée de sa vie en milieu humain plus ses effets toxiques se montraient moins intenses. Dans notre première expérience en effet, la mort survint en 12 heures ; dans la seconde, faite 15 jours après la pre-

mière une même dose ne déterminait plus la mort qu'en 12 jours ; dans la troisième expérience qui ne fut pratiquée que 15 jours après la précédente elle ne tue plus qu'en 28 jours ; dans la quatrième qui lui succéda, après deux mois on constata seulement un amaigrissement considérable avec perte d'appétit, mais l'animal se rétablit ; les suivantes ne déterminèrent plus que des accidents toxiques insignifiants.

Nous avons alors exalté la virulence du microbe par des passages successifs par l'animal (cobaye, lapin, chien) et nous avons dans cette nouvelle série d'expériences déterminé la mort, mais deux fois seulement sur quatre tentatives. Elle est survenue dans ces deux cas en 48 heures et 9 jours.

Il faut donc conclure que cette action toxique ne se manifeste que si l'on emploie une bactéridie très virulente, et pour expliquer les résultats moins nets obtenus dans notre seconde série d'expériences, on peut peut-être supposer qu'en dehors de la notion de virulence, la notion de la race microbienne employée joue un rôle dans la détermination des effets toxiques ; la bactéridie venant de cultiver en milieu humain semblant la plus apte à les créer. C'est là une simple hypothèse qui demanderait à être vérifiée.

Mais en dehors de cette notion de virulence, nos expériences nous ont encore conduit à d'autres considérations sur les conditions dans lesquelles cette toxicité se manifeste.

Nous pouvons dire, tout d'abord, que les extraits éthérés et chloroformés nous ont semblé avoir même valeur à ce sujet comme ils avaient même valeur dans la détermination de la lésion locale.

Nous pouvons conclure aussi de nos recherches que l'action toxique résiste à un chauffage à 100°. Mais il nous a semblé cependant que ce chauffage l'atténuait un peu, de sorte que nous avons employé de préférence la bactéridie vivante.

Tels sont les facteurs principaux qui interviennent pour modifier la toxicité des extraits. Mais nos expériences donnent lieu à d'autres remarques intéressantes. Leur détail montre en effet que nous nous sommes placé dans des conditions qui prouvent bien que l'action toxique observée ne peut dépendre que des poisons eux-mêmes. La dose d'huile que nous n'avons jamais dépassée n'est pas capable de déterminer par elle-même d'accidents toxiques. Nous nous sommes assuré d'autre part que notre filtration ne laissait pas passer de bactéridie ; d'ailleurs le sang de tous les animaux qui ont succombé du fait de l'injection de nos extraits solubilisés a toujours été ensemencé et ces cultures sont toujours demeurées stériles.

Etant donnés le nombre des conditions qui font varier la toxicité de ces extraits, la difficulté d'interprétation des résultats tantôt positifs, tantôt négatifs, étant donné le nombre des considérations qui s'attachent à chacune de ces expériences, nous pensons qu'il est préférable de les rapporter ici avec les remarques qu'elles comportent plutôt que de les reléguer avec les autres à l'appendice qui suit ce travail. Il sera ainsi plus facile au lecteur de contrôler certains points spéciaux qui pourraient l'intéresser.

Exp. 57. — 0,03 centigrammes d'extrait éthéré injecté en solution huileuse déterminent la mort d'un lapin de 4 kil. 350 en quelques heures.

Trois ballons de 300 grammes d'eau peptonée sont ensemencés avec la bactéridie provenant directement d'un cas de charbon humain.

Cultures à 37° pendant 8 jours.

Filtration sur papier des ballons non chauffés.

Filtre mis dans l'éther pendant 4 jours. On fait ensuite agir l'éther à chaud par distillation partielle à 40°.

Filtration à la bougie.

On concentre l'éther par distillation, puis on met à évaporer le résidu dans un verre de montre.

On obtient ainsi 0,03 centigrammes d'extrait.

On dissout cet extrait dans un centimètre cube d'huile d'olive stérilisée que l'on injecte à l'oreille d'un lapin de 4 kil. 350 à 7 heures du soir.

Le lendemain, on trouve le lapin mort. On ne constate pas de lésion locale au point de l'inoculation. On ne trouve pas dans les organes d'altérations capables d'expliquer cette mort rapide. L'ensemencement de sang reste négatif.

Remarques. — Une seule cause pouvait, à notre avis, avoir induit en erreur, c'est la pénétration de l'huile injectée dans un vaisseau ; or, nous avions pris soin d'éviter ceux-ci, d'ailleurs il ne s'était produit aucune hémorragie même minime.

Exp. 58. — Quinze jours plus tard, on recommence l'expérience en suivant point par point la même technique. La bactéridie ensemencée provient de la même source et a été conservée sur gélose à la température du laboratoire après 24 heures de séjour à l'étuve.

0,015 milligrammes d'extrait tuent un lapin de 2 kil. 200 en 12 jours. Pendant ce temps, l'animal qui cesse de manger, maigrit considérablement et se cachectise.

A l'autopsie, on ne constate pas de lésion locale, pas d'altérations organiques ; le sang ensemencé reste stérile.

Remarques. — L'animal a reçu par kilogramme la même dose que l'animal qui a succombé à la suite de l'expérience précédente.

On peut éliminer dans ce cas la possibilité d'un accident dû à la pénétration d'huile dans un vaisseau ; la mort dans ce cas eût été beaucoup plus rapide.

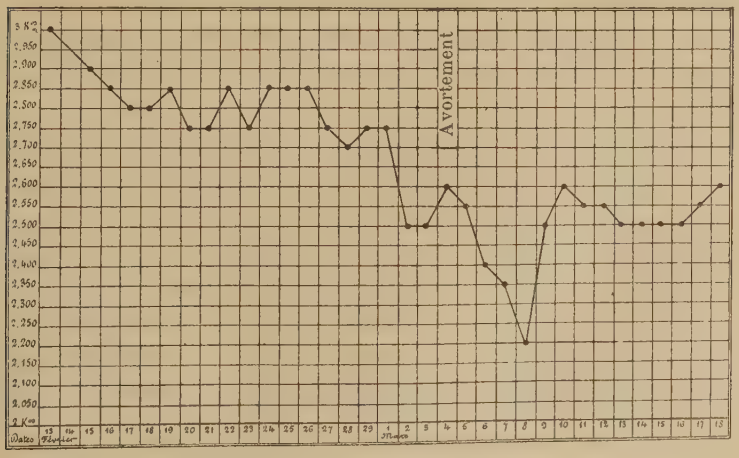
Exp. 59. — Quinze jours après, nouvelle expérience faite dans des conditions rigoureusement identiques. 0,02 centigrammes d'extrait éthéré en solution huileuse déterminent la mort en 28 jours d'un lapin de 2 kil. 600. L'animal maigrit considérablement, il perd un kilogramme de son poids. A l'autopsie, on ne constate rien d'anormal dans les différents organes, le sang ensemencé reste stérile.

Remarques. — Le lapin a reçu par kilogramme de poids, sensiblement la même dose que les précédents.

Exp. 60. — Elle n'est pratiquée que plusieurs mois après les précédentes. Même mode de préparation que pour ces dernières.

Le 13 février 1904, on injecte à l'oreille droite d'une lapine de

×



3 kilogrammes, 0,015 milligrammes d'extrait éthéré en solution huileuse. L'animal maigrit progressivement, il est abattu, a mauvais poil et 15 jours après l'injection avorte, il continue à diminuer de poids, maigrit encore pendant une dizaine de jours, puis reprend d'une façon manifeste et guérit, il vit encore 3 mois après l'inoculation.

Nous donnons ci-contre la courbe du poids. On constate qu'en 25 jours l'animal a progressivement perdu 800 grammes. L'atteinte de l'état général par injection de nos extraits solubilisés est donc bien manifeste.

Exp. 61. — Le 16 février on inocule à un lapin de 2 kil. 400, 0, 035 milligrammes d'extrait éthéré solubilisé dans un centimètre cube d'huile stérilisée. La technique ne diffère pas de celle précédemment employée. Notons cependant que nous n'avons pas fait agir l'éther à chaud sur les bactéridies. Il ne s'est produit aucune lésion locale et l'état général n'a pas été fâcheusement influencé.

La bactéridie employée provenait de notre malade, elle n'avait été passée par aucun animal, elle avait été conservée sur milieux artificiels mais fréquemment repiquée.

Six expériences analogues sont faites coup sur coup et donnent des résultats à peu près négatifs. Faites dans des conditions identiques avec la même race bactéridienne nous n'en donnons qu'un court résumé.

Exp. 62. — 0, 02 centigrammes d'extrait éthéré sont injectés le 23 février en solution dans un centimètre cube d'huile à un cobaye de 412 grammes. On ne constate aucun accident.

Exp. 63. — A deux reprises séparées par un intervalle de 6 jours on injecte à un lapin de 2 kil. 500, 0,005 milligrammes d'extrait éthéré. Ces deux inoculations successives ont déterminé chez cet animal un amaigrissement léger mais durable, accompagné d'inappétence et d'un mauvais état général. Mais le lapin reprend au bout d'une quinzaine de jours son aspect normal.

Exp. 64. — 0, 04 centigrammes d'extrait éthéré sont injectés le 3 mars en solution dans un centimètre cube d'huile à un lapin de 2 kil. 500, ils ne déterminent aucun accident.

Exp. 65. — Le 15 mars on inocule de même à un lapin de 2 kil. 100, 0, 015 milligrammes d'extrait éthéré fait avec des bactéridies ayant cultivé 15 jours en eau peptonée ; on ne constate aucun accident.

Exp. 66. — Cultures de 3 semaines. L'extrait éthéré à la dose de 0, 02 centigrammes ne produit rien.

Exp. 67. — Cultures de 6 jours. 1 centigramme injecté dans un centimètre cube d'huile à un lapin de 2 kil. 350 ne détermine aucun trouble.

Dans toutes ces dernières expériences négatives qui avaient été pratiquées presque simultanément, nous nous étions servi de la bactéridie provenant directement du sang de notre malade sans passage par les animaux. Cette bactéridie avait cultivé pendant 6 mois sur des milieux artificiels.

Dans toutes ces expériences nous nous étions attaché à rechercher si certaines modifications dans les différents temps de la fabrication des extraits étaient capables de faire varier leur toxicité. Mais nous nous sommes convaincu que ni la durée de la culture, ni la température à laquelle on faisait agir l'éther sur les bactéridies n'avaient d'influence. Aussi nous sommes-nous attaché alors à rendre de la virulence au microbe qui fournissait les extraits. Nous l'avons à cet effet passé par plusieurs espèces animales et avec cette bactéridie virulente nous avons recommencé une série de quatre expériences. Or sur les quatre, deux se sont montrées positives, puisque les extraits injectés ont déterminé la mort des animaux en 48 heures et 9 jours.

Exp 68. — Le 5 juin on inocule à un lapin de 4 kil. 200, 3 centigrammes d'extrait chloroformé fait avec des bactéridies ayant cultivé en eau peptonée à 37° pendant 15 et 6 jours et tuées par un chauffage à 100° pendant une demi-heure.

Rapidement l'animal maigrit considérablement, se cachectise et meurt en 48 heures. Rien à l'autopsie. Le sang ensemencé reste stérile.

Exp. 69. — Le 10 juin on inocule à un lapin de 3 kil. 200, 2 centigrammes d'extrait chloroformé fait avec des bactéridies non chauffées. Le lapin meurt 9 jours après sans avoir présenté comme les autres animaux d'amaigrissement notable. Rien à l'autopsie. Sang stérile.

Exp. 70. — On injecte le 10 juillet à un lapin de 2 kil. 120 une quantité non déterminée d'extrait chloroformé fait avec des bactéridies non tuées. On n'observe aucun accident.

Exp. 71. — Le 3 septembre on injecte dans la trachée d'un lapin de 2 kil. 300, un demi-centimètre cube d'huile stérilisée contenant 2 centigrammes d'extrait éthéré. On n'observe aucun accident.

Nous avons utilisé à deux reprises chez le cobaye, la voie pulmonaire comme voie d'absorption de nos extraits solubilisés dans l'huile. Les deux expériences ont été positives, les deux cobayes sont morts l'un en 28, l'autre en 45 jours. Mais nous ne pouvons attacher de valeur à ces faits, car un cobaye témoin ayant reçu dans la trachée un centimètre cube d'huile simple sans extrait est mort aussi en un mois. L'huile a peut-être une action toxique sur le cobaye, c'est une question à vérifier. Mais ce que nous pouvons affirmer, c'est que l'huile simple, en injection sous-cutanée ou intra-trachéale n'a pas déterminé d'action toxique chez le lapin. On peut s'en convaincre en se reportant aux expériences que nous donnons à l'appendice de ce travail.

CONCLUSIONS DE LA DEUXIÈME PARTIE

I. — Les toxines charbonneuses à détermination générale étudiées jusqu'ici rentrent pour la plupart dans le groupe des albumoses. Les auteurs qui les ont isolées leur attribuent une action toxique et une action préventive. Mais leurs recherches restent discordantes sur bien des points.

II. — Nous avons pu injecter à des animaux sans déterminer d'action nocive de grandes quantités d'eau peptonée dans laquelle la bactéridie avait cultivé un temps plus ou moins long.

III. — Nous avons recherché alors si les extraits éthérés et chloroformés, avaient, une fois solubilisés, une action toxique générale.

a) Pour les solubiliser nous nous sommes adressé à l'huile qui, à petites doses en solubilise des quantités suffisantes.

b) Ces injections huileuses d'extrait ne déterminent pas d'accident local, elles diffusent rapidement dans l'organisme.

c) Aux doses de un centigramme et demi, trois, quatre centigrammes les extraits ainsi solubilisés ont déterminé la mort de nombreux lapins. Dans ce cas les animaux maigrissent, perdent l'appétit et meurent cachectiques sans lésions organiques notables.

d) Mais certains résultats sont restés négatifs sans que

nous ayons pu fixer d'une façon rigoureuse la cause de ces échecs. L'action exercée est cependant d'autant plus manifeste que la bactéridie est plus virulente.

e) Les extraits éthérés et chloroformés semblent avoir même valeur.

f) Un chauffage à 100° ne détruit pas l'action toxique générale des extraits, il semble cependant l'atténuer, aussi est-il préférable d'employer à cet effet la bactéridie vivante.

CONCLUSIONS

Toute une nouvelle voie de recherches s'est trouvée ouverte par la connaissance du rôle toxique des matières grasses qui entrent dans la constitution des divers microbes.

C'est à M. Auclair que revient le mérite de cette découverte. Dans une série de travaux parus depuis 1897, cet auteur montre en effet, que les graisses extraites du bacille de Koch par l'éther et le chloroforme sont capables de reproduire la lésion tuberculeuse sous ses deux modalités anatomiques, fibreuse et caséeuse. Ces faits ont été vérifiés par un grand nombre d'expérimentateurs.

En novembre 1903, M. Auclair démontre que la plupart des microbes (il étudie le bacille d'Eberth, le streptocoque, le staphylocoque, le gonocoque, le pneumo-bacille de Friedländer, l'actinomycète, le bacille de Lœffler) possèdent, eux aussi, des poisons de même ordre que ceux décrits par lui dans le bacille de Koch. Extraits au moyen de l'éther ou du chloroforme, ces poisons déterminent, au point d'inoculation la lésion locale créée par ces divers microbes.

Il s'agit donc là d'une loi générale ; les matières grasses qui entrent dans la constitution des bactéries et qui vraisemblablement les entourent, contiennent des poisons « à détermination locale prédominante », dont les caractères ont été bien fixés dans les travaux précédemment cités.

C'est l'étude de ces poisons extraits de la bactéridie charbonneuse qui fait l'objet de notre travail.

Dans une première partie nous étudions *leur action locale,* après les avoir injectés en émulsion et les avoir ainsi déposés au point où nous voulons juger de leur effet.

Dans une seconde partie nous étudions leur *action générale* sur l'organisme tout entier, après les avoir ainsi rendus assimilables.

Première partie.

Nous avons pu, en injectant dans le tissu cellulaire sous-cutané d'animaux de diverses espèces, les extraits éthérés et chloroformés, à l'état d'émulsion, reproduire l'œdème malin.

Nous n'avons jamais obtenu de pustule maligne, mais on sait combien cette lésion est exceptionnelle dans l'infection charbonneuse des animaux.

En injection intra-trachéale nous avons reproduit au niveau du poumon, avec nos extraits, des lésions analogues à celles créées dans cet organe par l'injection de bactéridies virulentes ou tuées.

Nous avons fait précéder l'étude des réactions obtenues avec les matières grasses dans le tissu cellulaire et dans le poumon, de celles créées par les bactéridies vivantes ou tuées. Nous avons vu qu'il y avait là une analogie complète avec ce qui se passe dans la tuberculose où les bacilles morts sont comme les bacilles vivants capables de reproduire le tubercule. Nous montrerons que les bactéridies mortes sont capables de reproduire, elles aussi, l'œdème malin. Or, précisément l'action locale des extraits éthérés et chloroformés, se manifeste encore après un chauffage à 100° et

même 120° capable de tuer les germes. L'analogie entre les extraits de la bactéridie et ceux des autres microbes précédemment cités se poursuit d'ailleurs sur tous les points, de sorte que notre travail se trouve confirmer d'une façon absolue l'idée générale émise par M. Auclair, à savoir que les microbes pathogènes agissent localement par les matières grasses qui entrent dans leur constitution.

I. — Après avoir donné en détail la technique employée pour extraire ces matières grasses et avoir rapporté leurs caractères, nous étudions la réaction locale créée chez divers animaux, singe, jeune chien, lapin, cobaye, par l'*injection sous-cutanée* de bactéridies vivantes, de bactéridies tuées et des extraits éthérés et chloroformés. Nous voyons que les bactéridies virulentes donnent naissance à une exsudation séro-albumineuse parfois abondante qui constitue l'unique processus réactionnel observé ; il n'existe pas en effet d'appel leucocytaire, pas de phacocytose.

Les bactéridies tuées produisent, elles aussi, une exsudation séro-albumineuse abondante, mais dans la suite l'aspect de la lésion se modifie ; l'œdème disparaît et il se produit une infiltration leucocytaire considérable s'accompagnant de phagocytose et de nécrose des leucocytes ainsi attirés. Ce foyer de réaction dure longtemps, parfois un mois et demi à deux mois, jamais il ne s'évacue au dehors, il se résorbe toujours.

Avec les extraits éthérés et chloroformés on obtient des lésions absolument identiques à celles créées par les bactéridies tuées, et n'était la présence des bactéridies dans ce dernier cas il serait impossible macroscopiquement et microscopiquement de les distinguer.

La lésion à la suite de l'injection des extraits ne diffère donc de celle créée par les bactéridies virulentes que par la nature de la chimiotaxie vis-à-vis des leucocytes, positive dans le premier cas, négative dans le second.

II. — Les désordres observés *dans le poumon* à la suite d'injections intra-trachéales de bactéridies vivantes, de bactéridies tuées et des extraits éthérés et chloroformés sont de même ordre que ceux observés dans le tissu cellulaire. A la suite de l'injection de bactéridies virulentes dans la trachée de cobayes on constate la présence dans le poumon de zones rouge-brun ressemblant à des foyers de broncho-pneumonie. Mais ces fragments surnagent si on les dépose dans l'eau, et à la coupe on voit par les différents procédés de coloration qu'il n'y a pas d'infiltration fibrineuse. Les alvéoles sont bourrées de bactéridies qui plongent dans un exsudat albumineux. C'est là toute la réaction que nous avons observée ; nous n'avons pas vu se manifester, comme l'affirment plusieurs auteurs, de phagocytose. Pour certains, la phagocytose se ferait d'une façon si intense dans le poumon qu'elle suffirait à prévenir les animaux contre une infection mortelle lorsque ceux-ci sont infectés par voie trachéale. Nous avons cependant vu mourir et dans le délai habituel les animaux ainsi traités.

Après injection de bactéridies tuées par un chauffage à 100° pendant une demi-heure, on observe dans le poumon des lésions analogues qui ne diffèrent des précédentes que parce que les alvéoles contiennent en outre quelques polynucléaires et dont quelques-uns, rares il est vrai, phagocytent les bactéridies.

Avec les extraits éthérés et chloroformés on constate tou-

jours le même exsudat albumineux dans la paroi et à l'intérieur des alvéoles. Mais l'infiltration leucocytaire montre une topographie particulière. Les leucocytes forment de véritables manchons, renflés en certains points sous forme de nodules infectieux autour des veines ; ce gonflement spécial doit s'expliquer vraisemblablement par ce fait que les extraits qui, comme nous l'avons dit, exercent vis-à-vis des leucocytes une chimiotaxie positive, empruntent pour s'éliminer la voie veineuse ou lymphatique péri-veineuse.

On voit donc, en résumé, que les extraits éthérés et chloroformés déterminent des accidents identiques à ceux provoqués par les bactéridies tuées et ne différant de ceux que créent les bactéridies vivantes que par un appel leucocytaire que ne détermine pas ces dernières.

III. — Extrait éthéré et extrait chloroformé ont même action. Il n'y a pas là de différence analogue à celle qui existe pour la tuberculose où chacune des deux modalités anatomiques de la maladie est créée par un extrait spécial ; la chloroformo-bacilline déterminant la phtisie fibreuse, l'éthéro-bacilline la phtisie caséeuse. Mais il eût été bien extraordinaire que pour le charbon nous ayons obtenu des effets distincts avec nos deux variétés d'extraits, puisque la lésion charbonneuse créée chez les animaux par les bactéridies virulentes elles-mêmes résulte d'un seul processus réactionnel.

IV. — Nous avons par de nombreuses expériences de contrôle montré que les matières grasses obtenues par nous ne peuvent provenir que des bactéridies elles-mêmes, que la lésion qu'elles créent résulte bien uniquement de leur action et non pas du liquide qui sert à les émulsionner et à

les injecter, et enfin nous avons montré qu'il s'agit là d'une lésion spécifique que d'autres matières grasses microbiennes ou non microbiennes ne peuvent déterminer.

Aussi est-ce avec certitude que nous pouvons conclure que les accidents locaux d'œdème malin, que nous venons de décrire, dépendent bien de l'action toxique des matières grasses qui entrent dans la constitution de la bactéridie charbonneuse.

Deuxième partie.

I. — Les toxines à détermination générale étudiées jusqu'ici rentrent pour la plupart dans le groupe des albumoses. Les auteurs qui les ont isolées, leur ont trouvé des propriétés toxiques et préventives. Ils n'ont pas essayé de créer avec elles une sérothérapie curative antitoxique.

II. — Nous avons montré que l'injection de notables quantités d'eau peptonée dans laquelle a cultivé la bactéridie pendant un temps variable ne produit pas d'accident grave, ce qui prouve bien que la bactéridie n'abandonne pas facilement au milieu de culture ses substances toxiques.

III. — Les extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie injectés non plus à l'état d'émulsion, mais après solubilisation dans l'huile d'olive ou l'huile de sésame, ne déterminent pas d'accident local, mais peuvent déterminer des troubles graves de la santé générale. Un certain nombre de lapins ont été tués par l'injection de doses de un centigramme et demi à quatre centigrammes de ces extraits. Il est préférable de ne pas chauffer les bactéridies dont on veut utiliser les extraits en vue de l'étude de leur toxicité générale. Il faut agir aussi avec des bactéridies très virulen-

tes. Les meilleurs résultats ont été obtenus par nous, en employant les bactéridies recueillies directement du sang d'un malade atteint d'œdème malin. Les accidents généraux observés ont consisté en un amaigrissement progressif, de l'inappétence, en un état de cachexie aboutissant à la mort en un temps variable de 12 heures à 28 jours.

Malheureusement plusieurs tentatives sont restées négatives sans que nous ayons pu interpréter les causes de ces échecs. La connaissance des conditions qui règlent l'apparition de cette toxicité générale des extraits est cependant du plus haut intérêt, car elle est indispensable pour juger avec rigueur des modifications que pourraient imprimer à l'organisme des injections répétées de ces substances à doses non toxiques.

Malgré cette grosse lacune il nous a semblé intéressant de rapporter nos faits positifs, car nous croyons nous être placé dans les conditions les plus favorables pour une expérimentation rigoureuse. Nous nous sommes assuré, en effet, que l'huile injectée aux doses employées n'était pas toxique par elle-même. Nous nous sommes assuré qu'il ne pouvait s'être glissé aucune erreur dans la filtration. Le sang de tous les animaux qui ont succombé a été ensemencé largement et n'a jamais décelé la présence de bactéridies. Faisons remarquer d'autre part, que bien des fois nous avions préparé les extraits que nous utilisions pour l'étude de leur toxicité locale, sans avoir, au préalable, chauffé les cultures ; or, aucun de nos animaux ainsi traités n'a présenté de troubles de la santé générale.

EXPÉRIENCES

Nous résumons ici les expériences qui nous ont permis d'arriver aux conclusions précédemment énoncées. Nous suivons dans leur énumération l'ordre que nous avons adopté dans le travail lui-même, et nous les groupons par chapitres semblables.

Pour arriver aux résultats que nous avons exposés il nous a fallu répéter un grand nombre de fois les mêmes expériences aussi dans chacun de ces chapitres ne rapportons-nous souvent qu'une de ces opérations pour éviter de fastidieuses redites.

PREMIÈRE PARTIE

I. — Lésions sous-cutanées résultant de l'injection : 1° de bactéridies virulentes ; 2° de bactéridies tuées ; 3° des extraits éthérés et chloroformés.

A. — *De bactéridies virulentes.*

Nous avons étudié l'action locale des bactéridies virulentes chez le singe, le jeune chien, le lapin, le cobaye.

Exp. 1. — *Singe.* — Le 1er novembre 1904 on injecte à la joue d'un petit singe de 3 kil. 500 gr. un demi-centimètre cube d'une émulsion concentrée de bactéridies virulentes dans l'eau distillée. La même dose injectée à un cobaye de 300 grammes le tue en 26 heures.

Douze heures après l'injection, il existe un œdème assez léger et qui ne se montre d'ailleurs pas très intense dans la suite. Il est constitué par une exsudation séro-albumineuse contenant peu de leucocytes, de nombreuses bactéridies ; pas de phacocytose.

Le singe est absorbé, endormi, il tousse fréquemment et meurt en 60 heures sans avoir présenté de paralysie. On trouve de nombreuses bactéridies dans le sang.

En résumé la marche de la maladie n'a guère différé de celle qu'elle revêt chez le cobaye. On a assisté à une infection générale rapide avec, au contraire, une réaction locale minime. Il est vrai qu'on avait à faire à un singe de petite espèce.

Exp. 2. — *Jeune chien.* — Le 10 novembre 1904 on insère à un chien de un mois et demi, sous la peau du flanc, quelques bactéridies charbonneuses. Il se produit un œdème énorme infiltrant le tissu cellulaire sous-cutané et les muscles de la paroi. L'animal meurt en 48 heures d'infection généralisée.

Exp. 3 et 4. — *Lapin et cobayes.* — Nous avons injecté avec du charbon un très grand nombre de lapins et de cobayes. L'injection était faite à l'oreille, au dos, chez le lapin ; au dos chez le cobaye. Suivant la technique employée pour pratiquer cette injection on observe des œdèmes d'intensité différente. Il nous a semblé que l'exsudation séro-albumineuse était plus abondante, quand, après avoir décollé la peau à l'aide d'un bistouri, on insérait dans le tissu cellulaire sous-cutané une certaine quantité de bactéridies provenant par râclage d'une culture en milieu solide. L'injection d'une émulsion détermine un œdème moins intense.

Nous ne donnons pas ici les résultats de l'examen histologique du processus de réaction, nous l'avons étudié en détail au cours de notre travail et il s'est toujours manifesté d'une façon identique.

B. — *De bactéridies tuées.*

Nous avons pratiqué aussi l'étude de la réaction créée par l'injection dans le tissu cellulaire sous-cutané de bactéridies

tuées, chez le : 1° singe ; 2° le jeune chien ; 3° le lapin.

Exp. 5. — *Singe.* — Le 1er *octobre* on injecte à un grand singe dans le tissu cellulaire de la joue gauche un demi-centimètre cube d'une émulsion très chargée de bactéridies tuées par un passage à 100° pendant une demi-heure.

Rapidement le véhicule est résorbé.

Le 2, on constate un œdème mou, légèrement rosé au niveau de l'injection.

Le 3, l'œdème augmente mais reste toujours localisé à la joue.

Le 4, il se produit à ce niveau une induration profonde ; — l'œdème se résorbe.

Le 5, grosse nodosité assez ferme, rénitente.

Le 6, cette tumeur devient plus dure, et persiste identique pendant une quinzaine de jours, puis elle diminue et disparaît un mois après l'injection.

L'état général est resté indemne.

L'examen histologique a été étudié au cours du travail.

Exp. 6. — *Jeune chien.* — Le 5 octobre 1904, on injecte à un chien âgé de un mois et demi, au niveau des deux régions inguinales un centimètre cube d'une émulsion de bactéridies tuées par un chauffage d'une demi-heure à 100°.

Pendant deux ou trois jours on n'observe qu'une très légère tuméfaction. L'œdème n'est pas facile à voir macroscopiquement, la peau étant très épaisse, mais une incision pratiquée d'un côté permet de retirer un peu de sérosité albumineuse.

Au bout d'une huitaine de jours se forme des deux côtés une grosse tumeur ferme, dure, qui persiste très longtemps ; elle ne se résorbe en effet qu'au bout de deux mois. L'examen histologique montre qu'il s'agit de leucocytes nécrosés. — L'analyse plus détaillée de cet examen a été donné au cours du travail.

Exp. 7. — *Lapin.* — Les injections ont été faites à l'oreille. — Les bactéridies étaient soit injectées en émulsion très concentrée dans l'eau distillée ou le sérum physiologique, soit plus rarement

insérées sous la peau. Nous avons fait un grand nombre de ces expériences, pratiquant d'heure en heure des prises du tissu de réaction. Nous avons rapporté en détail dans notre travail, une de ces expériences qui montre nettement l'évolution histologique de la réaction observée. Il serait donc fastidieux de citer toutes ces opérations ; nous n'en rapportons qu'une seule qui montre nettement d'une part l'évolution de la lésion macroscopique et, d'autre part l'absence d'altération de l'état général.

Les nombreuses expériences pratiquées avec des bactéridies tuées à 120°, ont déterminé des lésions locales de même ordre quoique moins intenses.

On voit, d'après le tableau suivant, qu'il existe une légère élévation de la température rectale. Mais celle-ci se montre souvent aussi élevée chez l'animal sain. L'anus entre en contraction pour expulser la cuvette du thermomètre, ce qui détertermine l'élévation constatée.

On cultive pendant deux jours des bactéridies sur pomme de terre.

On passe les tubes de culture à l'autoclave à 100° une demi-heure.

On émulsionne les bactéridies dans du sérum physiologique stérile.

On inocule sous la peau de l'oreille 1/2 centimètre cube de cette solution.

Le 30 *mars* 1904. — Lapin, 2.600. Injection.

31. — Lapin, 2.600. Légère rougeur et nodosité œdémateuse.

1er *avril*. — Lapin, 2.500. La rougeur diminue, l'œdème augmente.

2. — Lapin, 2.450. La tuméfaction s'isole bien.

3. — » 2.600. La tuméfaction s'indure à sa base et devient rénitente à la surface.

4. — Lapin, 2.600. T. 38°4. La tumeur est ferme.

5. — » 2.700. T. 38°3. La tumeur est ferme.

6. — » 2.750. T. 39°3. La tumeur est à son apogée comme volume.

7. — Lapin, 2.750. T. 39°1. On l'incise, il s'écoule un magma

blanchâtre, adhérent à la profondeur, analogue à du mastic, constitué par des polynucléaires nécrosés.

8. — Lapin, T. 38°5. La tumeur s'est reformée.

13. — » T. 39° 6. La tumeur s'est reformée.

17. — » Nouvelle incision, il s'écoule encore une grande quantité de substance mastic.

19. — Lapin, 2.850. La tumeur s'est reformée aussi volumineuse.

1er *mai*. — Lapin, 2.800. La nodosité ferme roulant sous le doigt a presque disparu par résorption lente.

C. — *Des extraits éthérés et chloroformés.*

Nous avons étudié l'action locale créée par l'injection sous-cutanée des extraits éthérés et chloroformés chez : 1° le singe ; 2° le lapin.

1° *Singe*. — Nous avons fait cette étude sur deux singes. L'un d'eux a reçu successivement à l'une puis à l'autre joue, 0 gr. 043 d'extrait éthéré, et 0 gr. 07 d'extrait chloroformé. Dans les deux cas nous avons obtenu une réaction énorme et identique.

Ce même singe nous a servi de nouveau six mois plus tard, et nous avons reproduit à la joue avec l'extrait éthéré (0 gr. 05) un œdème considérable. A chacune de ces expériences, nous injections à la joue du côté opposé à celle où était injecté l'extrait la même quantité de véhicule contenant la même quantité d'alcali, et toujours ces épreuves de contrôle se sont montrées négatives.

L'autre singe, d'autre espèce, petit, a reçu 0 gr. 10 d'extrait éthéré, la réaction de même nature a été minime. Il est vrai qu'elle s'est montrée telle, chez le même animal, à la suite de l'injection de bactéridies virulentes.

Exp. 8. — *Action locale de l'extrait éthéré.* — Cette expérience a été donnée en détail dans le cours de notre travail.

Exp. 8 *bis.* — Le 28 avril, on injecte à la joue droite d'un grand singe 0,05 centigrammes d'extrait éthéré parfaitement émulsionné dans trois quarts de centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de carbonate de soude à saturation. A la joue gauche on injecte la même quantité de liquide, plus une goutte de carbonate de soude à saturation, mais sans extrait éthéré.

Douze heures après, œdème énorme de la joue droite. Rien à gauche.

Cet œdème persiste 48 heures, puis il diminue, remplacé par une tuméfaction demi-molle formée par des leucocytes plus ou moins dégénérés. Cette tuméfaction disparaît en huit jours.

Exp. 9. — *Action locale de l'extrait chloroformé.* — Le 1er *novembre* 1904, on inocule à la joue gauche d'un singe de grande taille, 0,07 centigrammes d'extrait chloroformé émulsionné dans un demi-centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au tiers. L'émulsion se fait bien.

A la joue droite on inocule la même quantité d'eau et de soude, mais pas d'extrait.

2. — La joue droite est absolument normale, tandis que la gauche est le siège d'un œdème volumineux formant une grosse poche au niveau de la paupière inférieure, une tuméfaction œdémateuse considérable de la joue qui est légèrement rosée, et sous le menton se dessine une bourrelet d'œdème tremblottant.

3. — L'exsudation est par suite de la déclivité, devenue beaucoup plus abondante au niveau du menton et de la joue, tandis qu'elle a disparu sous la paupière.

4. — La tuméfaction se limite à la région de la joue, elle diminue sous le menton.

Le 5 et les jours suivants l'œdème diminue puis disparaît pour faire place à une tumeur dure, ferme, constituée par une substance mastic formée de leucocytes nécrosés.

Le singe grattant sans cesse cette région, la plaie pratiquée pour

examiner le tissu de réaction ne se ferme pas, la substance formée de pus aseptique s'élimine et au bout d'une quinzaine de jours tout est terminé.

L'examen histologique pratiqué au stade d'œdème et au stade de nécrose leucocytaire s'est montré absolument identique à celui pratiqué dans l'expérience qui précède.

Exp. 10. — *Action locale de l'extrait éthéré.* — Le 20 septembre 1904, nous injectons à un singe d'autre espèce, à la joue, 0,10 centigrammes d'extrait éthéré en émulsion dans un demi-centimètre d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au tiers.

L'extrait avait été fabriqué avec des cultures de bactéridies ayant séjourné deux mois à l'étuve à 37°, et tuées par un chauffage à 100° trois quarts d'heure.

Le lendemain de l'injection il se dessine un léger œdème qui persiste 48 heures et auquel succède une petite nodosité ferme qui se résorbe en 5 à 6 jours.

Le même singe inoculé plus tard avec du charbon virulent n'a présenté d'ailleurs qu'un œdème minime.

2° *Lapin.* — Pour arriver aux résultats que nous avons formulés dans notre travail nous avons dans nos expériences suivi l'ordre que voici :

Nous avons étudié séparément l'action des extraits éthérés et chloroformés et nous avons étudié successivement les résultats fournis avec chacun de ces extraits fabriqués avec : *a*) des bactéridies virulentes ; *b*) des bactéridies tuées par un chauffage à 100° pendant une demi-heure ; *c*) des bactéridies tuées par un chauffage à 120° pendant 20 minutes.

Nous avons exposé plus haut que les résultats s'étaient, dans toutes ces conditions, montrés identiques, nous avons montré qu'un chauffage à 120° atténuait légèrement l'action locale de ces poisons.

Il nous a fallu un grand nombre d'expériences pour fixer chacun de ces points ; il serait oiseux de les rapporter toutes ici. Nous n'en décrirons qu'une seule comme type, et encore ne donnerons-nous que notre *modus faciendi*, les résultats obtenus ayant été donnés en détail dans notre travail.

Exp. 11. — *Action locale de l'extrait éthéré fait avec des bactéridies vivantes.* — On se sert de cultures de 5 jours à 37° on filtre sans les tuer. Le filtre reste 4 jours dans l'éther.

Le 7 *février* 1904,on injecte 0.02 centigrammes de cet extrait émulsionné dans un demi-centimètre cube d'eau additionnée de 2 gouttes de carbonate de soude à 1/10, à l'oreille d'un lapin de 2 kil. 200.

Rapidement le véhicule est résorbé.

9. — OEdème léger formant une légère tuméfaction.

13. — — 2.100

14. — Gros nodule, acuminé, ferme non fluctuant 2.100

16. — — 2.100

17. — — 2.200

21. — La lésion locale augmente. La tumeur est saillante et renitente : 2.200

1er *mars*. — La lésion est toujours très nette,elle forme une tumeur atteignant le volume d'une très grosse noisette : 2.050.

6. — La lésion diminue, elle se résorbe et ne tend ni à suppurer ni à faire escarre, on la ponctionne et on retire une masse blanchâtre, mastic : 2.100.

Pas de trouble de l'état général.

Exp. 12. — *Action locale de l'extrait éthéré fait avec des bactéridies tuées à* 100°. — Le 11 *février* 1904 injection de un centimètre cube et demi d'extrait éthéré en émulsion dans un demi-centimètre cube d'eau additionnée d'une goutte de carbonate de soude à 1/10 à l'oreille d'un lapin de 2 kil. 800.

13. — Léger œdème.

14. — Nodule plus ferme, laissant par incision échapper une substance blanchâtre crémeuse.

21. — Toujours nodule de même volume, il s'est reformé rapidement après énucléation.

1er *mars*. — La lésion est à peu près guérie, le nodule s'est résorbé : 2.800.

Exp. 13. — *Action locale de l'extrait élhéré fait avec des bactéridies tuées à* 120°. — Cultures en bouillon de 7 jours passées à 120° pendant 20 minutes.

Filtre dans l'éther 5 jours.

Filtrage à la bougie.

L'éther est évaporé à la température ordinaire.

Le 26 mai 1904 on inocule un centimètre et demi de l'extrait éthéré ainsi préparé.

Les jours suivants œdème léger, auquel succède une induration qui se résorbe assez lentement.

Exp. 14. — *Action locale de l'extrait chloroformé fait avec des bactéridies non chauffées*. — Le 3 juin inoculation de 2 centigrammes d'extrait chloroformé fait avec des bactéridies non tuées ; œdème léger, puis induration.

Exp. 15. — *Action locale de l'extrait chloroformé fait avec des bactéridies tuées à* 100°. — Les lésions sont absolument identiques à celles créées par l'extrait éthéré fait suivant la même technique. Plusieurs fois nous avons injecté à des lapins à une oreille 2 centigrammes d'extrait éthéré et à l'autre 2 centigrammes d'extrait chloroformé, l'évolution des lésions s'est montrée identique. Au stade d'œdème, nous avons souvent pratiqué sur le liquide retiré par ponction la réaction du biuret qui a toujours été positive.

Parfois nous avons obtenu une escarre, si bien que nous avions cru un moment que l'extrait chloroformé était capable de créer le processus d'escarrification. Mais nous nous sommes aperçu dans la suite qu'il s'agissait dans ces cas d'une erreur de technique et que l'escarre dépendait d'une trop forte addition de soude.

Exp. 16. — *Action locale de l'extrait chloroformé fait avec des bactéridies tuées à* 120°. — Résultats identiques à ceux des extraits éthérés préparés de la même façon.

II. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de : a) bactéridies virulentes ; b) bactéridies tuées ; c) extraits éthérés et chloroformés.

A. — *Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes.*

Toutes ces opérations ont été pratiquées chez le *cobaye*.

Exp. 17. — Le 25 mai, on injecte dans la trachée d'un cobaye un quart de centimètre cube d'une forte émulsion de bactéridies virulentes dans l'eau sodique.

Il ne se produit pas d'infection de la plaie.

Le cobaye meurt en 20 heures.

A l'autopsie on constate une congestion intense des deux poumons.

Les coupes montrent la présence de bactéridies dans les alvéoles qui sont comblées par un exsudat albumineux. Pas d'irruption leucocytaire.

Sur ces coupes on constate une dilatation extrême des vaisseaux et par places de véritables infarctus.

Exp. 18. — Le 4 août, on injecte dans la trachée d'un cobaye un quart de centimètre cube d'une forte émulsion de bactéridies virulentes. Pas d'infection de la plaie. Mort en 60 heures. Foyers de congestion surtout au niveau des lobes inférieur et moyen du poumon droit. Ces foyers isolés surnagent.

Exp. 19, 19 *bis*, **19** *ter*. — Même technique. Mort en 36-48 et 40 heures. — Dans deux de ces expériences la plaie était infectée de charbon, et il s'était produit à ce niveau un œdème notable ayant envahi le cou.

Dans un cas on ne constate pas de lésions macroscopiques. Les lésions histologiques sont celles décrites dans notre travail.

On trouve toujours la présence de bactéridies dans le sang.

B. — *Lésions pulmonaires créées par l'injection de bactéridies tuées.*

1° *Par un chauffage à 100°.*

Exp. 20. — Le 14 *avril*, injection intra-trachéale de un demi-centimètre cube d'une émulsion dans du sérum artificiel.

L'animal maigrit peu.

14 *avril*, Poids : 650 gr.
15 — — 547 »
16 — — 552 »
17 — — 555 »
18 — — 555 »
19 — — 557 »
20 — — 575 »

On le sacrifie au 6e jour. On constate des foyers de congestion et sur les coupes quelques infarctus, et une infiltration leucocytaire dans les parois des alvéoles. Les bactéridies mal colorables sont retrouvées à l'intérieur et dans les parois de celles-ci. On ne constate pas de phagocytose.

Exp. 21. — Le 17 *avril* on injecte dans la trachée d'un cobaye de 430 grammes un centimètre cube d'une forte émulsion de bactéridies tuées à 100°.

18 *avril*, Poids : 365 gr.
19 — — 370 »
20 — — 397 »
21 — — 360 ». — L'animal est très oppressé et se plaint constamment.
22 — — 365 »
23 — — 347 »
25 — — 347 »
27 — — 347 ». — Il se plaint moins et respire plus facilement. On le sacrifie.

Lésions macroscopiques peu marquées ; on constate seulement quelques petits foyers congestifs disséminés.

Au microscope on note la presence de bactéridies dans les alvéoles, d'un exsudat albumineux abondant et de quelques leucocytes.

Exp. 22 et 23. — Ces deux expériences sont menées parallèlement.On injecte deux lots de 4 cobayes chacun que l'on sacrifie au bout de 5, 24, 48 heures et 4 jours.

Les résultats sont exposés dans notre travail.

2° *Par un chauffage à* 120°.

Exp. 24 et 25. — On observe des lésions analogues aux précédentes. Comme dans ces dernières on constate une infiltration leucocytaire péri-veineuse des plus nettes.

Ces expériences sont assez délicates car, s'il n'existe pas de lésion macroscopique nette, qui guide dans le choix du fragment à examiner, les coupes peuvent porter sur des points où n'ont pas pénétré les bactéridies mortes qui ont été injectées.

C. — *Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale des extraits éthérés et chloroformés.*

Nous avons étudié ces lésions après injection d'extraits éthérés et chloroformés faits avec des bactéridies vivantes, tuées à 100 ou 120°.

Exp. 26. — *Cultures filtrées mais non tuées.* — 2 centigrammes d'extrait éthéré sont injectés dans un centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au tiers. Le cobaye est très oppressé tout de suite après l'injection ; il meurt 24 heures après l'injection, après avoir avorté.

A l'autopsie on constate que tout le lobe moyen du poumon droit est splénisé et plonge au fond de l'eau. On constate disséminés dans les deux poumons des foyers de congestion.

Coupe : alvéoles remplies par une substance amorphe, qui n'est pas colorée en violet par la méthode de Weigert. Les bronches sont saines. Autour des veines on constate un manchon épais de leuco-

cytes et quelques autres nodules infectieux en plein parenchyme pulmonaire.

Exp. 27, 28, 29, 30. — On fait des extraits éthérés et chloroformés avec des bactéridies tuées à 100 et 120° et on injecte une série de cobayes que l'on sacrifie au bout de 5, 24, 48 heures, 4 jours.

On a dans ces différentes expériences des résultats sensiblement identiques, c'est-à-dire que l'on constate d'abord de l'œdème dans les alvéoles et dans leurs parois avec léger appel leucocytaire en ces points. Sur une de nos coupes nous avons constaté une phagocytose nette se faisant dans la paroi des alvéoles. Plus tard, on constate la présence de véritables nodules infectieux autour des veines.

D. — *Opérations de contrôle touchant à l'étude des lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale des extraits bactéridiens.*

Nous sommes assuré : 1° que la manière de tuer nos animaux n'était pas capable de déterminer de lésion par elle-même ;

2° Que le véhicule employé pour injecter les extraits était inoffensif.

Exp. 31. — Le chloroforme en inhalation tue le cobaye sain sans déterminer de lésion pulmonaire macroscopique ou microscopique.

Exp. 32. — Un centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au tiers ne crée pas de lésion.

III. — Opérations de contrôle touchant au mode de fabrication et d'injection des extraits bactéridiens.

A. — *Les matières grasses proviennent bien des bactéridies.*

Exp. 33. — *La peptone employée pour cultiver la bactéridie ne contient pas de matières grasses.* — On laisse séjourner dans un ballon contenant de l'éther, 30 grammes de peptone, pendant 48 heures.

On filtre à la bougie pour se débarrasser de la peptone.

On concentre par distillation l'éther qui a filtré.

On le laisse évaporer ensuite sur un verre de montre. On n'obtient qu'un léger enduit impondérable.

Exp. 34. — *Le filtre de papier employé ne contient pas de matières grasses.* — On laisse séjourner pendant 48 heures dans un ballon d'éther, deux filtres de papier.

On filtre à la bougie.

L'éther évaporé ne laisse pas déposer de matières grasses.

Exp. 35. — On refait avec un ballon de 500 grammes d'eau peptonée stérile exactement toute la série des opérations qui servent à la fabrication des extraits. En ayant soin d'éviter de mettre l'éther ou le chloroforme en contact avec des tubes ou des bouchons de caoutchouc ; on n'obtient aucun résidu.

B. — *Le véhicule employé n'est pas caustique.*

Exp. 36. — Les doses de soude employées (une goutte de soude au tiers ou une à deux gouttes de carbonate de soude au dixième) pour émulsionner les extraits ne sont pas caustiques. Nous nous en sommes assuré par un grand nombre d'expériences.

Au contraire des doses plus fortes : un demi-centimètre cube de soude au tiers ou un demi-centimètre cube de carbonate de soude au dixième donnent naissance chez le lapin dans le tissu cellulaire sous-cutané de l'oreille, à des escarres qui peuvent aller jusqu'à la perforation.

Exp. 37. — Il faut avoir soin avant d'injecter les extraits de laisser évaporer complètement l'éther ou le chloroforme. Si l'éther est peu caustique, le chloroforme au contraire est capable même à petite dose de donner naissance à un escarre.

C. — *D'autres matières grasses non bactéridiennes ne produisent pas d'action analogue.*

Exp. 38. — On injecte à un singe dans le tissu cellulaire de la

joue, un centimètre cube d'eau distillée additionnée d'une goutte de soude au tiers dans laquelle on a émulsionné 0,05 centigrammes d'axonge stérilisée. La réaction obtenue est insignifiante.

Exp. 39. — On injecte à un lapin simultanément à une oreille de l'extrait éthéré émulsionné et à l'autre oreille la même dose d'axonge lavée et émulsionnée. On peut constater que l'axonge ne détermine pas de réaction comparable à celle produite par l'extrait bactéridien.

Exp. 40. — Le 7 février on injecte à un lapin simultanément à une oreille 0,02 centigrammes d'extrait éthéré émulsionné avec 2 gouttes de carbonate de soude au dixième et à l'autre oreille 0,02 centigrammes d'axonge émulsionnée avec 2 gouttes de carbonate de soude au dixième. L'axonge ne produit aucune réaction.

Exp. 41. — Le 12 juillet 1904, on fait dissoudre dans l'éther et le chloroforme une forte quantité d'axonge. On évapore ensuite l'éther et le chloroforme. Les extraits axongo-éthéré et axongo-chloroformé sont injectés en émulsion aux deux oreilles d'un lapin. On n'obtient qu'une réaction minime qui disparaît en 48 heures.

D. — *Des corps inertes injectés dans le tissu cellulaire ne produisent pas d'action analogue.*

Exp. 42. — Un demi-centimètre cube d'une émulsion très concentrée de *tripoli* est injectée le 6 juillet à l'oreille d'un lapin. Le corps étranger est rapidement résorbé sans avoir déterminé de lésion appréciable.

Même résultat avec une émulsion de *pierre ponce* et de *talc*.

E. — *Action des bactéridies traitées par l'éther.*

1° *Bactéridies vivantes.*

Les bactéridies vivantes traitées par l'éther pendant 4 jours sont encore capables de tuer les animaux et reproduisent un œdème net. Mais ce dernier fait n'a aucune

valeur au point de vue qui nous occupe, car la bactéridie qui n'a pas été tuée, se multiplie dans l'organisme infecté et donne naissance à des éléments jeunes, capables de déterminer toutes les altérations que détermine la bactéridie vivante. Nous rapportons néanmoins nos expériences, car elles montrent que les bactéridies ainsi atténuées peuvent donner naissance à un charbon chronique et elles montrent d'autre part, que quand on agit avec des bactéridies vivantes, il faut, dans la suite des opérations qui servent à fabriquer les extraits, prendre les précautions d'usage.

Exp. 43. — Les bactéridies non tuées sont après un séjour de 4 jours dans l'éther inoculées dans un peu d'eau distillée à l'oreille d'un lapin de 4 kilogrammes.

Il se produit un gros œdème qui persiste longtemps, et qui contient des bactéridies en grand nombre ; on ne trouve pas de bactéridies dans le sang. L'animal maigrit un peu.

Treize jours après la première injection on inocule de nouveau quelques bactéridies traitées de même façon ; il se produit encore au niveau de l'injection un gros œdème, le lapin est absorbé, se plaint constamment, et meurt paraplégié plus d'un mois après la première inoculation.

Exp. 44. — Les bactéridies non tuées sont après 4 jours de contact avec l'éther injectées à un lapin de 2 kil. 600, il se produit un œdème local et l'animal meurt en trois jours d'infection généralisée. On retrouve en effet des bactéridies en grand nombre dans la circulation générale.

2° *Bactéridies tuées à* 100°.

Exp. 45. — Le 20 octobre 1903, on injecte à l'oreille d'un lapin des bactéridies traitées par l'éther et tuées à 100°. On observe le lendemain de l'œdème, puis une tumeur ferme formée de polynucléaires nécrosés. En somme il s'agit d'une réaction identique à celle créée

par les bactéridies tuées et non traitées par l'éther, mais ce qui explique peut-être ce résultat c'est la difficulté, l'impossibilité même de séparer les microbes de l'extrait éthéré ; on a beau laver plusieurs fois les germes à l'éther, celui-ci est tellement volatil qu'il laisse toujours déposer un peu de matière grasse.

3° *Bactéridies tuées à* 120°.

Exp. 46. — Le 3 novembre, on injecte à l'oreille d'un lapin des bactéridies traitées par l'éther et tuées à 120°. On n'observe aucune réaction.

DEUXIÈME PARTIE

I. — Résultats de l'injection de l'eau peptonée dans laquelle a cultivé la bactéridie charbonneuse.

1. — *Eau peptonée simple non ensemencée.*

Exp. 47. — Le 26 mars, on injecte à un lapin sous la peau du dos 50 centimètres cubes d'eau peptonée stérile.

26 *mars* : Poids : 2.700.
28 — — 2.550.
30 — — 2.700.
1er *avril.* — 2.700.
2 — — 2.650.

Le lapin est surveillé encore longtemps mais ne présente aucun accident appréciable. La température n'a pas été prise.

2. — *Eau peptonée dans laquelle la bactéridie a cultivé à* 37°.

Exp. 48. — Après huit jours de séjour en eau peptonée à 37° on filtre cette culture sur papier, puis à la bougie. On inocule 50 centimètres cubes du liquide filtré sous la peau du dos d'un lapin de 3 kil. 200 le 30 mars 1904.

30 *mars*, Poids : 3.200.
31 — — 3.300.
1er *avril.* — 3.100.
2 — — 3.025.
3 — — 3.100. T. 39°
4 — — 3.050. T. 39°1.
5 — — 3.100. T. 39°1.
8 — — 3.200. T. 38°9.
7 — — 3.200. T. 38°2.
13 — — 3.200. T. 38°6.

50 centimètres cubes d'eau peptonée dans laquelle a cultivé huit jours la bactéridie n'ont donc déterminé aucun accident : pas de lésion locale, pas d'amaigrissement.

Exp. 49. — On filtre une culture de bactéridies en eau peptonée de six jours après l'avoir chauffée à 100° pendant 20 minutes. Puis on évapore au dixième de son volume cette eau peptonée par un chauffage à 100° pendant huit heures.

On inocule ensuite 40 centimètres cubes de ce liquide concentré sous la peau du dos d'un lapin de 2 kil. 650. L'injection est très douloureuse

3 *avril.* —	11 heures du matin,	Poids : 2.650.	
3 —	4 heures du soir	— 2.640.	T. 38°8.
4 —		— 2.600.	T. 39°6.
5 —		— 2.650.	T. 38°3.
6 —		— 2.600.	T. 38°4.
7 —			T. 39.
13 —		— 2.900.	T. 38°8.

Il ne s'est donc, encore dans ce cas, produit aucun accident.

Exp. 51. — On cultive les bactéridies en eau peptonée à 37° pendant 17 jours. On filtre à la bougie sans avoir chauffé et on injecte 50 centimètres cubes du liquide filtré à un lapin de 2 kil. 950.

19 *avril,*	Poids : 2.950.	T. 38°6.	
21 —	— 2.900.	T. 39°4.	
22 —	— 3.000.	T. 39°4.	
30 —	— 3.000.	T. 39°4.	

Exp. 52. — On ensemence dans un petit ballon de 150 centimètres cubes d'eau peptonée des bactéridies et une émulsion de moelle osseuse retirée des pattes de lapin de deux mois. Cette émulsion de moelle fraîche est stérilisée par un passage à 50° une demi-heure.

On met le tout à l'étuve à 37° le 13 *avril.*

15. — On vérifie la culture qui est pure.

27 *avril*. — On filtre sur papier, puis sur bougie.

Soixante centimètres cubes de l'eau peptonée ainsi débarrassée des microbes et non chauffée sont inoculés à un lapin de 3 kilogr.

28 *avril*, Poids : 2.950. T. 35°6.

30. — — 2.900. T. 39°4.

Le lapin est suivi longtemps et ne présente pas d'accidents notables.

II. — Action toxique générale des extraits éthérés et chloroformés.

A. — *Solubilisation de ces extraits. — L'huile aux doses employées n'est pas toxique.*

Exp. 53. — Le 1er *mars*, on inocule à l'oreille d'un lapin de 2 kil. 800 un centigramme et demi d'huile d'olive stérilisée. Il ne se produit ni lésion locale, ni trouble général.

Le 5 *mars* on inocule de nouveau trois centimètres cubes d'huile 2.700.

6 *mars*, Poids : 2.700, pas de réaction locale.
7 — — 2.700
11 — — 2.700
19 — — 2.600
24 — — 2.750

Exp. 54. — Le 24 *mars* on inocule à un jeune lapin de deux mois pesant 562 grammes 2 centimètres cubes, puis les jours suivants un centimètre cube et demi et 2 centimètres cubes d'huile d'olive stérilisée. Il ne s'est produit aucun accident.

24 *mars*, Poids : 562 gr. Injection de 2 centimètres cube d'huile.
25 — — 580 » Injection de 1 centimètre cube 1/2 d'huile.
26 — — 562 »
28 — — 582 »
3 *avril* — 650 »
4 — — 665 » Injection de 2 centimètres cubes d'huile.

5 *avril*, Poids : 640 gr.
6 — — 644 »
7 — — 692 »
8 — — 670 »
9 — — 672 »
10 — — 710 »
11 — — 710 »
13 — — 730 »

Exp. 55. — Le 17 septembre on injecte à un lapin 5 centimètres cubes d'huile stérile. Le lapin se porte bien.

Exp. 56. — Le 10 *octobre* on injecte *dans la trachée* d'un lapin un centimètre cube d'huile stérile. Le lapin ne présente aucun accident.

10 *octobre*, Poids : 2.940.
11 — — 2.830.
13 — — 2.948.
28 — — 3.270.

B. — *Action toxique générale des extraits en solution huileuse, chez le lapin.*

Exp. 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71. — Les expériences se rattachant à ce sujet ont été données en détail au cours de notre travail.

C. — *Action toxique générale des extraits en solution huileuse, injectés dans la trachée de cobayes.*

Exp. 72. — Le 1er août 1904, on injecte dans la trachée d'un cobaye de 370 grammes, un demi-centimètre cube d'huile d'olive stérilisée tenant en solution 0, 046 milligrammes d'extrait éthéré. Ce dernier a été fabriqué avec des cultures de 12 jours passées à l'autaclave à 100° pendant une demi-heure.

Le cobaye meurt le 28 août, c'est-à-dire 28 jours après l'injection,

on ne trouve pas de lésion à l'autopsie. Le sang ensemencé reste stérile.

Exp. 73. — Le 30 septembre on injecte dans la trachée d'un cobaye un demi-centimètre cube d'huile tenant en solution 0, 015 milligrammes d'extrait éthéré fait avec des cultures de 48 heures, non chauffées.

L'animal meurt le 15 novembre, c'est-à-dire 45 jours après l'injection. Rien à l'autopsie. Sang stérile.

Exp. 74. — Le 4 septembre on injecte dans la trachée d'un cobaye un centimètre cube d'huile d'olive stérilisée simple, ne contenant pas d'extrait. Le cobaye meurt le 3 octobre, un mois après l'injection.

Vu :
Le Président de la Thèse,
A. CHANTEMESSE.

Vu :
Le Doyen,
DEBOVE.

Vu et permis d'imprimer :
Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,
L. LIARD.

TABLE DES MATIÈRES

Pages

INTRODUCTION 7

PREMIÈRE PARTIE

Action locale des poisons bactéridiens.

CHAPITRE PREMIER. — **Structure de la bactéridie charbonneuse. — Préparation et caractères des extraits éthérés et chloroformés** 17

§ 1. 17

§ 2. — Mode de préparation des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse. 20

§ 3. — Caractères des extraits. 23

CHAPITRE II. — **Lésions sous-cutanées résultant de l'injection : 1° de bactéridies virulentes ; 2° de bactéridies tuées ; 3° des extraits éthérés et chloroformés** 25

§ 1. — Lésions sous-cutanées créées par l'injection de bactéridies virulentes 26

§ 2. — Lésion sous-cutanée créée par l'injection de bactéridies tuées. 31

§ 3. — Lésion sous-cutanée créée par l'injection des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse 36

CHAPITRE III. — **Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale : 1° de bactéridies virulentes ; 2° de bactéridies tuées ; 3° des extraits éthérés et chloroformés** . . . 41

§ 1. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies virulentes 41

§ 2. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale de bactéridies tuées. 44

§ 3. — Lésions pulmonaires créées par l'injection intra-trachéale des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie. 45
§ 4. — Conclusions. 46

CHAPITRE IV. — **Opérations de contrôle touchant au mode de fabrication et d'injection des extraits bactéridiens** 48

1° Les matières grasses obtenues proviennent bien des bactéridies 48
2° Les lésions observées sont bien dues aux poisons que contiennent ces matières grasses. 49
3° Il s'agit là d'une lésion spécifique. 50

Conclusions de la première partie. 54

DEUXIÈME PARTIE

Action générale des poisons bactéridiens.

CHAPITRE PREMIER. — **Toxines charbonneuses à détermination générale** 55

§ 1. — Historique 55
§ 2. — Recherches personnelles. 64
§ 3. — Sérothérapie curative 65

CHAPITRE II. — **Action générale des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse** 70

§ 1. — Solubilisation des extraits graisseux. 70
§ 2. — Action générale toxique des extraits éthérés et chloroformés de la bactéridie charbonneuse. 71

Conclusions de la deuxième partie 79

CONCLUSIONS 81

EXPÉRIENCES 89

Imp. J. Thevenot, Saint-Dizier (Haute-Marne).